

Kernspinpolarisation zur magnetischen Markierung physiologisch aktiver Substrate

Dissertation

zur
Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Ute Bommerich

aus
Bonn

Bonn 2005

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 2002 bis Dezember 2004 am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität unter der Betreuung von Prof. Dr. J. Bargon erstellt

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

1. Referent: Prof. Dr. J. Bargon
2. Referent: Prof. Dr. H. Wamhoff
Tag der Promotion: 17.02.2005

Meinem Liebsten

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG.....	1
2. MOTIVATION UND ZIELSETZUNG.....	5
3. PHIP-NMR-SPEKTROSKOPIE	7
3.1 ORTHO- UND PARAWASSERSTOFF	8
3.2 PARAWASSERSTOFF INDUZIERTER POLARISATION	12
3.3 ANWENDUNGEN	19
4. DIE HYDRIERREAKTION	21
5. RELAXATION	24
6. POLARISATIONSTRANSFER AUF HETEROKERNE	32
7. TARGETSYSTEME	37
7.1 ANAESTHETIKA	38
7.2 ANTIEPILEPTIKA	39
7.3 STOFFWECHSEL-INTERMEDIATE	41
7.4 L-DOPA	42
7.5 PROFENE.....	43
8. STRUKTURUNTERSUCHUNGEN	44
8.1 POLARISATIONSTRANSFER BEI DER HYDRIERUNG VON DREIFACHBINDUNGS- SYSTEMEN	44
8.2 POLARISATIONSTRANSFER BEI DER HYDRIERUNG VON DOPPELBINDUNGS- SYSTEMEN	55
8.3 EINFLUSS DER MOLEKÜLGRÖÖE.....	66
8.4 ESTER UND SÄUREN	75
8.5 VALPROAT- UND PROFENBAUSTEINE.....	82
8.6 ETHER	93

9.	EINFLUSS DES LÖSUNGSMITTELS	104
9.1	POLARISATIONSTRANSFER IM STARKEN MAGNETFELD	104
9.2	UNTERSUCHUNG DER LÖSUNGSMITTELABHÄNGIGKEIT UNTER PASADENA- BEDINGUNGEN	108
10.	RELAXATIONSZEITEN	110
11.	POLARISATIONSTRANSFER AUF ^{13}C-KERNE OHNE PROTONENTRANSFER.....	119
12.	EINFLUSS DER KOPPLUNG	126
13.	EXPERIMENTELLES	135
13.1	PARAWASSERSTOFFANREICHERUNG.....	135
13.2	PASADENA- UND ALTADENA-EXPERIMENTE	136
13.3	PROBENVORBEREITUNG	138
14.	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	139
15.	LITERATURVERZEICHNIS	142

1. Einleitung

Seit der Entdeckung der Kernmagnetischen Resonanzspektroskopie (NMR) im Jahre 1945 durch zwei voneinander unabhängige Arbeitsgruppen [1, 2] hat diese Methode eine enorme Entwicklung erfahren. Die NMR-Spektroskopie stellt inzwischen eines der leistungsfähigsten Hilfsmittel der analytischen Chemie dar [3-7]. Durch die gesteigerte Messempfindlichkeit der heute verwendeten Spektrometer und den Einsatz von maßgeschneiderten Pulssequenzen gelingt inzwischen auch die Strukturaufklärung sehr komplizierter Moleküle, die physiologisch von großer Bedeutung sind [8-11].

Seit Beginn der 80er Jahre findet das Prinzip der NMR-Spektroskopie durch den Einsatz gezielter räumlicher Unterschiede der Magnetfeldstärke [12] auch in der medizinischen Diagnostik ein weites Anwendungsgebiet. Die Magnetische Resonanz Tomographie (MRT), auch Magnetic Resonance Imaging (MRI) genannt, gestattet die morphologische Abbildung einer Vielzahl von Organen, wie zum Beispiel des Rückenmarks oder des Gehirns. Ein großer Vorteil dieses Verfahrens zeigt sich in der Tatsache, dass es sich bei der MRT um eine nicht invasive Methode handelt, die in vivo Untersuchungen aller Bereiche des Körpers zulässt [13]. Durch die Verwendung spezieller Kontrastmittel und verschiedener Pulssequenzen können sogar funktionelle Informationen gewonnen werden. Beispielsweise können über Signaländerungen Aussagen zur Aktivität bestimmter Hirnregionen gemacht werden. Von besonderem Interesse sind in diesem Zusammenhang Untersuchungen, die Informationen über ausgesuchte Stoffwechselvorgänge liefern können [14-20]. Trotz der großen Vorteile dieser Methode ist die MRT mit einem großen technischen Aufwand verbunden und hat, wie die NMR-Spektroskopie, mit einer im Vergleich zu anderen spektroskopischen Methoden relativ geringen Empfindlichkeit zu kämpfen. Obgleich sich die mit den neuesten Tomographen erhaltenen Bilder inzwischen durch eine sehr hohe Auflösung auszeichnen, sind der Weiterentwicklung dieses Verfahrens gewisse Grenzen gesetzt. In der NMR-Spektroskopie haben sich zur Empfindlichkeitssteigerung zwei sehr nahe liegende Strategien schon bewährt. Einerseits kann die Auflösung durch den Einsatz höherer Magnetfelder gesteigert werden, sodass zum heutigen Zeitpunkt bereits Spektrometer mit einem Messfeld von 21 Tesla käuflich zu erwerben sind.

Andererseits kann die Messempfindlichkeit durch Temperaturenniedrigung erhöht werden. Die Anwendung solcher Strategien in der Kernspintomographie ist nur eingeschränkt möglich, da zum Beispiel die Messtemperatur durch die Körperwärme festgelegt ist. Auch der Einsatz höherer Magnetfelder ist mit Problemen verbunden, da die Detektion dann mit stärkeren Anregungspulsen verknüpft ist. Bei einem Feld von 7 Tesla gelangt man so bereits in den Bereich der Nervenregung, was veranschaulicht, dass die Grenzen der Empfindlichkeitssteigerung auf diesem Wege nahezu erreicht sind. Die Forschung im Bereich alternativer Ansätze zur Steigerung der Messempfindlichkeit hat daher heute eine große Bedeutung erlangt.

Die gezielte Erzeugung polarisierter Atome oder Moleküle, die durch eine veränderte Besetzung der Kernspinniveaus zum Teil drastische Signalüberhöhungen zeigen, gehört derzeit zu einem der vielversprechendsten Ansätze. Hochpolarisierte Edelgase finden als gasförmige Kontrastmittel in der Kernspintomographie schon seit einigen Jahren ihren Einsatz [21, 22, 23]. Aufgrund der Tatsache, dass solche Edelgase im menschlichen Körper keine Umsetzung erfahren, können auf diesem Wege zwar durchaus sehr kontrastreiche Bilder bestimmter Volumina, z B. der Lunge, erhalten werden, aber für die funktionelle Bildgebung ist der Einsatz physiologisch aktiver Substanzen von größtem Interesse.

Die Erzeugung spinpolarisierter Moleküle und die damit verknüpfte Empfindlichkeitssteigerung im NMR-Experiment ist schon seit einigen Jahren Gegenstand der aktuellen Forschung. Diese Kernspinpolarisation lässt sich in bestimmten Molekülen auf verschiedene Weise induzieren. Die Chemisch Induzierte Dynamische Kernspinpolarisation (CIDNP) wurde bereits Ende der 60er Jahre entdeckt [24, 25]. Auch die dynamische Kernpolarisation (DNP) wird zur Generierung verschiedener polarisierter Substanzen herangezogen, die dann im entsprechenden NMR-Spektrum deutlich verstärkte Signale zeigen [26]. Bereits Ende der 80er Jahre wurde eine Methode entdeckt, die durch eine Addition von para-angereichertem Wasserstoff an ungesättigte Systeme Kernspinpolarisation im entsprechenden Hydrierprodukt erzeugt [27-31]. Der PHIP-Effekt (Parahydrogen Induced Polarization) ist bis zum heutigen Zeitpunkt ausgiebig untersucht worden und hat besonders zur Aufklärung von Hydriermechanismen entscheidende Beiträge geliefert (Kap. 3.3).

Aufgrund des im Vergleich zu anderen Verfahren relativ geringen apparativen Aufwands stellt diese Methode eine sehr attraktive Möglichkeit zur Erzeugung verschiedener kernspinpolarisierter Substrate dar.

Bisher finden derartig polarisierte Substrate in der medizinischen Diagnostik mittels MRT noch keine Anwendung, da sich aus Gründen der physiologischen Verträglichkeit nur ganz bestimmte Verbindungen einsetzen lassen.

In der Kernspintomographie wird daher ein besonderes Augenmerk auf die Detektion ganz bestimmter Kernsorten gelegt, die andere oder kontrastreichere Informationen liefern können. Die verschiedenen Kerne liefern nicht nur unterschiedliche Spektren mit verschiedenen Informationen, sondern jeder Kern besitzt spezifische Anforderungen, die berücksichtigt werden müssen. Der ^1H -Kern ist wegen seiner großen Empfindlichkeit in der NMR-Spektroskopie anderen Kernen gegenüber deutlich überlegen. Daher beschränkt man sich auch in der MRT vorwiegend auf die Detektion dieses Kerns. Insbesondere zur Untersuchung bestimmter Metaboliten, die bei Hirnfunktionen eine tragende Rolle spielen, hat sich jedoch die Detektion des ^{13}C -Kerns als ausgesprochen erfolgreich gezeigt [32]. In der ^{13}C -Spektroskopie sind die Resonanzen in den Spektren über bis zu 200 ppm verteilt. Gegenüber der Protonen-Spektroskopie, deren Signale sich über einen Bereich von nur 10 ppm erstrecken, stellt dies einen großen Vorteil dar. Die hohe Verschiebungsbreite in unterschiedlicher chemischer Umgebung hat diesen Kern für die analytische Chemie, besonders für Moleküle biologischen Ursprungs, schon lange sehr interessant gemacht. In der Bildgebung ist jedoch ein anderer Aspekt von Bedeutung. Der menschliche Körper besteht zu 63% aus Wasser. Die erhaltenen Protonenspektren sind daher über einen weiten Bereich von dem entsprechenden Signal dominiert.

Zur Detektion bestimmter Verbindungen, wie z.B. N-Acetylaspartat oder Lactat, müssen daher spezielle Aufnahmesequenzen eingesetzt werden [33]. Für den ^{13}C -Kern tritt diese Problematik nicht auf. Dieser Kern zeichnet sich jedoch durch eine niedrige relative Empfindlichkeit aus. Bedingt durch ein im Vergleich zu ^1H um $\frac{1}{4}$ geringeres magnetogyrisches Verhältnis und eine sehr geringe natürlicher Häufigkeit von nur 1.1%, ist dieser Kern NMR-spektroskopisch nur schwer zugänglich. In der MRT bedient man sich daher zum Beispiel der spezifischen Markierung bestimmter Stoffwechselprodukte mit ^{13}C , um deren Ab- und Umbau im Körper studieren zu können [32, 34].

Andere Möglichkeiten, die geringe Empfindlichkeit zu erhöhen, basieren auf NOE (Nuclear Overhauser Effect), INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer) oder DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) Methoden [35-37]. Hier wird durch Anwendung bestimmter Pulssequenzen unter Nutzung dipolarer oder skalarer Kopplungsmechanismen gezielt Polarisation von ^1H auf den ^{13}C -Kern übertragen. Die so erzielten Signalsteigerungen sind jedoch nicht sehr hoch.

Es zeigt sich also, dass Methoden, die zu einer Empfindlichkeitserhöhung, ganz besonders für diesen Kern führen, einen ganz entscheidenden Beitrag zur modernen medizinischen Diagnostik liefern können.

Bei der Erzeugung kernspinpolarisierter Moleküle mittels der PHIP-Methode lassen sich Signalsteigerungen von bis zu 10^4 erzielen. Der PHIP-Effekt beschränkt sich jedoch nicht nur auf die Protonen im Molekül, sondern kann auch zu einer Intensitätssteigerung der Signale von Heterokernen im selben Substrat führen (Kap. 6). Ein solcher Polarisationstransfer wurde erstmalig im Jahre 1989 an einem Iridiumkomplex detektiert [38]. Einige Jahre später konnte dann gezeigt werden, dass der Transfer der Polarisation auf den ^{13}C -Kern im Rahmen eines PHIP-Experimentes für ein bestimmtes Substrat zu einer Signalsteigerung um einen Faktor 2580 führt [39]. Dieses Ergebnis motivierte schließlich zur Anwendung desselben Ansatzes für die Aufnahme eines ^{13}C -Angiogramms, das in weniger als einer Sekunde generiert werden konnte und so das mögliche Potential der Methode für die MRT veranschaulicht [40].

2. Motivation und Zielsetzung

Der Transfer der durch den PHIP-Effekt generierten Polarisation von den übertragenen Protonen auf den ^{13}C -Kern stellt wie erläutert eine attraktive Methode zur Empfindlichkeitssteigerung, besonders im Hinblick auf die Anwendung in der MRT, dar. Die gezielte magnetische Markierung physiologisch verträglicher oder sogar aktiver Substanzen auf diesem Wege kann zur Weiterentwicklung der Kernspintomographie einen entscheidenden Beitrag liefern.

Ein physiologisch wirksames Substrat könnte so über die erhöhte Signalintensität im Tomographen Informationen über den Wirkort und, durch die Verschiebungsabhängigkeit der Signale von der chemischen Umgebung, über die Umsetzung im menschlichen Körper liefern. Für einen erfolgreichen Einsatz dieses Verfahrens steht damit die Notwendigkeit zur Markierung ausgesuchter Verbindungen, die genannte Anforderungen erfüllen müssen, im Vordergrund.

Des Weiteren handelt es sich bei der dem PHIP-Effekt zugrunde liegenden chemischen Reaktion um eine homogen katalysierte Hydrierung, die in einem Lösungsmittel unter Einwirkung bestimmter Katalysatoren stattfindet. Die durch die Hydrierung erzeugten, überhöhten Signale unterliegen ab dem Zeitpunkt ihrer Generierung verschiedenen Relaxationsphänomenen, was dazu führt, dass der Detektion dieses Effektes ein zeitlicher Rahmen gesetzt ist. Ein in die Blutbahn injiziertes Substrat benötigt ca. 20 Sekunden um in alle Regionen des Kreislaufes verteilt zu werden. Diese Vorgabe verdeutlicht, dass die Erzeugung so markierter Substrate, unter Berücksichtigung von Relaxationsprozessen, innerhalb dieses Zeitfensters erfolgen sollte. Es ist daher sinnvoll, die Reaktion in einem Medium ablaufen zu lassen, das physiologisch verträglich ist und so vor einer Applikation nicht mehr abgetrennt werden muss. Im Hinblick auf die nach der Reaktion einsetzenden Relaxationsmechanismen von ^1H - und ^{13}C -Kernen wird auch an dieser Stelle ein weiterer Vorteil des angestrebten Transfers der Polarisation deutlich. Die Relaxationszeiten des Kohlenstoff-Kerns liegen erfahrungsgemäß bei deutlich höheren Werten, als die der entsprechenden Protonen.

Ziel dieser Arbeit ist es, verschiedene struktur- und reaktionsbedingte Parameter zu erfassen, die einen erfolgreichen Transfer auf den ^{13}C -Kern ermöglichen. Die so gewonnenen Erkenntnisse sollen dann genutzt werden, um die Möglichkeit der magnetischen Markierung eines tatsächlich physiologisch aktiven Substrats zu überprüfen. Ein erfolgreicher Transfer ist bisher nur für wenige Verbindungen dokumentiert, deren Strukturen von physiologisch wirksamen Verbindungen noch deutlich entfernt sind. Weiterführende Untersuchungen auf diesem Gebiet und eine sich daraus ergebende, gezielte Markierung ausgesuchter Substrate könnten die Bestrebungen zur Entwicklung neuer funktioneller Untersuchungsmethoden in der MRT einen entscheidenden Schritt weiterbringen.

3. PHIP-NMR-Spektroskopie

Der PHIP-Effekt (Parahydrogen Induced Polarization) wurde bereits 1986 von Bowers und Weitekamp theoretisch vorausgesagt [27]. Die experimentelle Bestätigung des Phänomens, das zunächst dem verwandten CIDNP-Effekt (Chemically Induced Dynamic Nuclear Polarization) [24, 25, 41] zugeordnet wurde, erfolgte schon ein Jahr später parallel durch zwei unabhängige Arbeitsgruppen [28, 29]. Das Phänomen, das der PHIP-NMR-Spektroskopie zugrunde liegt, entsteht durch die homogen katalysierte Hydrierung ungesättigter organischer Substrate mit para-angereichertem Wasserstoff. Im NMR-Spektrum können so charakteristische, extrem verstärkte Antiphasensignale beobachtet werden.

Die Grundlage für diesen Effekt bilden die Symmetrieeigenschaften des Wasserstoffs, die zu „Kernspinnisomeren“ führen und der Symmetriebruch des Parawasserstoffs im Verlauf der Hydrierung. Der von Parawasserstoff mit einem Gesamtkernspin $I_{\text{ges}} = 0$ besetzte Kernspinzustand besitzt eine definierte Symmetrie. Durch die Übertragungsreaktion kommt es daher im Produktmolekül zu einer bevorzugten Besetzung von Kernspinzuständen mit gleicher Symmetrie. Die Polarisation beschreibt also eine von der üblichen Boltzmann-Verteilung abweichende Besetzung der Kernspinniveaus, die im Spektrum zu einer theoretischen Signalverstärkung von 10^5 führen kann. Dieser Effekt wurde von Bowers und Weitekamp ursprünglich als PASADENA (Parahydrogen And Synthesis Allow Dramatically Enhanced Nuclear Alignment) bezeichnet [28]. Die charakteristischen Signale wurden bei der Hydrierung von Acrylnitril mit para-angereichertem Wasserstoff innerhalb des Spektrometers detektiert. Erfolgt die Hydrierung außerhalb des Spektrometers, also im schwachen Erdmagnetfeld, ergeben sich von dem PASADENA-Experiment abweichende Signalmuster. Dieser Effekt wurde 1988 von Pravika und Weitekamp gedeutet und mit dem Akronym ALTADENA (Adiabatic Longitudinal Transport After Dissociation Enders Net Alignment) versehen [42]. Wie im Folgenden noch erläutert werden soll, hat es sich als sinnvoll erwiesen, den Begriff PHIP-Spektroskopie als Oberbegriff für das Phänomen zu verwenden und den Akronymen PASADENA und ALTADENA die unterschiedlichen Experimentführungen zuzuordnen.

Die durch die Hydrierung mit Parawasserstoff erzielte Signalverstärkung kann genutzt werden, um die Hydrierreaktion in situ zu verfolgen und zum Beispiel durch die Kopplungsmuster der Polarisationsignale die Übertragungsposition der Protonen zu ermitteln. Des Weiteren erlaubt die PHIP-NMR-Spektroskopie die Detektion katalytisch aktiver Intermediate und liefert Erkenntnisse über den Reaktionsmechanismus und die entsprechende Kinetik (Kap. 3.3).

3.1 Ortho- und Parawasserstoff

Molekularer Wasserstoff existiert in zwei verschiedenen Kernspinisomeren, die sich durch die Orientierung der Kernspins im Molekül zueinander unterscheiden [43]. Die Kernspins der beiden Atome können parallel oder antiparallel ausgerichtet sein. Bei einer parallelen Ausrichtung dieser Einzelmomente zueinander spricht man von symmetrischem oder Orthowasserstoff. Mit einer Kernspinquantenzahl von $I = 1/2$ ergibt sich damit ein Gesamtspin von $I_{\text{ges}} = 1$. Für die antiparallele Orientierung erhält man einen Gesamtspin von $I_{\text{ges}} = 0$, da sich die Einzelmomente im Molekül kompensieren. In diesem Fall spricht man von antisymmetrischem oder Parawasserstoff. In Abb. 3.1-1 sind diese Spinisomere mit den daraus resultierenden Gesamtspins dargestellt.

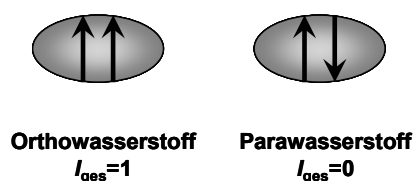


Abbildung 3.1-1: *Relative Orientierung der Kernspins in Ortho- und Parawasserstoff*

Durch die Richtungsquantelung der Gesamtspins ergeben sich für die Spinisomeren $(2I + 1)$ Eigenzustände, die durch die magnetische Quantenzahl ($m = I, I - 1, -I$) charakterisiert sind. Für den Parawasserstoff mit $I_{\text{ges}} = 0$ existieren somit ein Singulett-Zustand und für den Orthowasserstoff mit $I_{\text{ges}} = 1$ drei entartete Triplettzustände.

Die beiden Isomere unterscheiden sich in ihrer Energie. Aufgrund von Symmetriauflagen werden von Parawasserstoff nur Rotationszustände mit geraden Quantenzahlen besetzt, während Orthowasserstoff nur ungerade Rotationszustände besetzt. Dies folgt aus der Betrachtung der Gesamtwellenfunktion des Moleküls. Gemäß dem Pauli-Prinzip muss die Symmetrie der Gesamtwellenfunktion eines Systems aus Fermionen (Protonen, Elektronen) ungerade sein. Diese Gesamtwellenfunktion (Gleichung 3.1) setzt sich gemäß der Born-Oppenheimer-Näherung aus dem Produkt der voneinander unabhängigen Anteile für Translation, Elektron, Vibration, Rotation und Kernspin zusammen.

$$\Psi_{\text{gesamt}} = \Psi_{\text{Translation}} \cdot \Psi_{\text{Elektron}} \cdot \Psi_{\text{Vibration}} \cdot \Psi_{\text{Rotation}} \cdot \Psi_{\text{Kernspin}}$$

Da das Produkt der Anteile für Translation, Elektron und Vibration gerade ist, muss das Produkt aus Rotations- und Kernspinanteil ungerade sein. Der ungerade Singulettzustand von Parawasserstoff ist folglich mit geraden Rotationsquantenzahlen verknüpft. Die entsprechenden Zustände, die mit den geraden Rotationsquantenzahlen $J = 0, 2, 4, \dots$ korrelieren, liegen energetisch tiefer als die Zustände des Orthowasserstoffs mit ungerader Rotationsquantenzahl. Die beiden Kernspinisomere zeigen damit in einem weiten Temperaturbereich einen Unterschied im Rotationsanteil der spezifischen Wärmekapazität, der ein Maximum zwischen 140 und 170 K aufweist [44]. Dies bewirkt einen Unterschied in der Wärmeleitfähigkeit und ermöglicht so eine Bestimmung der Anteile beider Isomere in einer Mischung.

Aufgrund des relativ geringen Energieunterschiedes der Rotationszustände liegt molekularer Wasserstoff bei Raumtemperatur in einem Gemisch vor, das entsprechend der dreifachen Entartung des Triplettzustands zu 75% aus Orthowasserstoff und zu 25% aus Parawasserstoff besteht. Wasserstoff mit dieser Zusammensetzung wird im Folgenden als thermischer Wasserstoff bezeichnet.

Bei niedrigen Temperaturen verschiebt sich durch die stärkere Besetzung des energetisch niedrigsten Rotationsniveaus mit der Rotationsquantenzahl $J = 0$ das Gleichgewicht zugunsten des Parawasserstoffs. Die Umwandlung von Ortho- in Parawasserstoff geschieht jedoch ohne einen Katalysator extrem langsam, da Übergänge zwischen Zuständen unterschiedlicher Spinmultiplizität symmetrieverboten sind.

Gemäß dem Pauli-Prinzip müsste ein Übergang zwischen Kernspinzuständen ungleicher Symmetrie zu einer gleichzeitigen Änderung der Symmetrie eines weiteren Wellenfunktionsanteils führen, was extrem unwahrscheinlich ist. Aufgrund dieses Interkombinationsverbotes ist dann auch Wasserstoff mit einem höheren Anteil an Parawasserstoff in der Gasphase lange Zeit stabil, bevor sich das nach dem Boltzmann-Gesetz für die gegebene Temperatur erwartete Gleichgewicht wieder einstellt.

Hingegen ist in Gegenwart von Aktivkohle als Katalysator eine schnelle Gleichgewichtseinstellung möglich. Durch Einwirkung der paramagnetischen Oberfläche wird das Übergangsverbot zwischen den Zuständen aufgehoben. Bei tiefen Temperaturen erreicht man so eine Anreicherung des Parawasserstoffes im Gemisch der Spinisomeren [45].

In dieser Arbeit erfolgte diese Anreicherung teilweise durch Kühlung in flüssigem Stickstoff bei 77 K in einer U-Rohr-Aktivkohlezelle. Man erreicht so eine Anreicherung von 50% Parawasserstoff [46]. Des Weiteren wurde auch Wasserstoff mit einer 97%igen Anreicherung von Parawasserstoff verwendet, der bei 30 K in einer Anreicherungsanlage der Fa. Oxford hergestellt wurde (Kap. 13) [47].

Durch Einbringen des molekularen Wasserstoffs in ein statisches Magnetfeld B_0 erfolgt eine Aufspaltung der entarteten Triplettzustände des Orthowasserstoffes (Zeeman-Effekt). Für Orthowasserstoff mit $I_{\text{ges}} = 1$ existieren in einem statischen Magnetfeld drei unterschiedliche Orientierungsmöglichkeiten, die gemäß der Ausrichtung des resultierenden magnetischen Momentes zum angelegten Feld mit T_{+1} , T_{-1} und T_0 bezeichnet werden. In Abb. 3.1-2 ist die Ausrichtung der Kernspins im A_2 -Spinsystem des Wasserstoffs dargestellt. Die antiparallele Orientierung der Spinmomente im Parawasserstoff führt zu einer gegenseitigen Kompensation, sodass dieser antisymmetrische Singulettzustand kein magnetisches Gesamtmoment besitzt und daher im Magnetfeld keine energetische Veränderung erfährt.

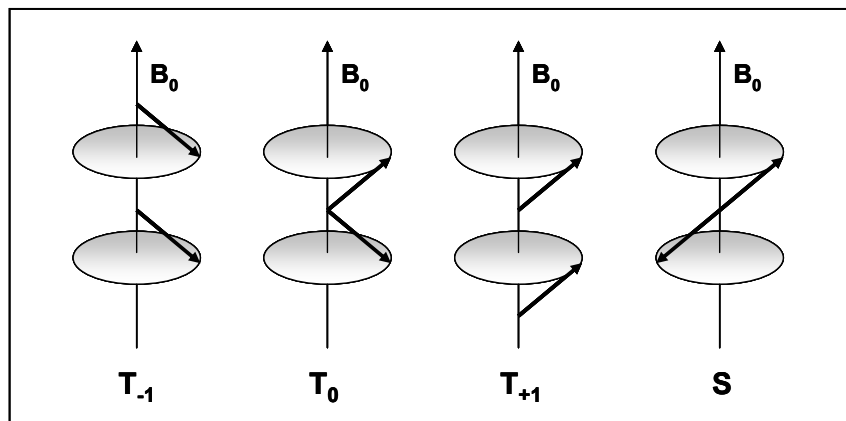


Abbildung 3.1-2: Ausrichtung der Kernspinvektoren eines Wasserstoffmoleküls im statischen Magnetfeld B_0

Die resultierenden Kernspinzustände der unterschiedlichen Kernspinisomere in einem statischen Magnetfeld sind verantwortlich für deren NMR-Aktivität. In Abb. 3.1-3 ist ein Energieniveauschema der Kernspinzustände und das aus den so möglichen Übergängen resultierende NMR-Spektrum schematisch dargestellt.

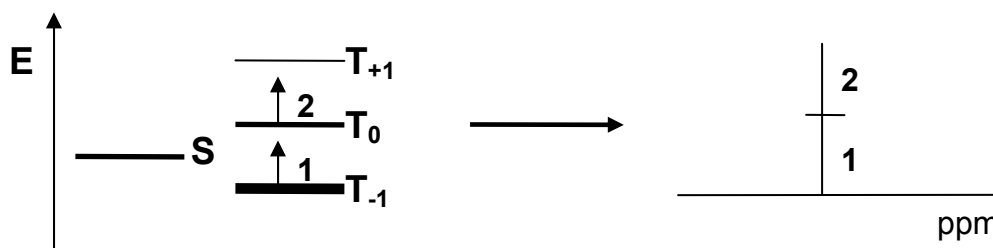


Abbildung 3.1-3: Energieniveaus der Kernspinzustände von Wasserstoff im Magnetfeld und schematische Darstellung des resultierenden Spektrums

Die Energieniveaus sind entsprechend der Boltzmann-Verteilung besetzt. Die gezeigten Übergänge zwischen den Triplettzuständen des Orthowasserstoffs sind energetisch gleichwertig, da die feldabhängige Absenkung des T_{-1} -Zustands eine entsprechende Erhöhung des T_{+1} -Zustandes zur Folge hat. Das führt dazu, dass im NMR-Spektrum von Wasserstoff nur ein Signal detektierbar ist, das bei einer Verschiebung von 4.5 ppm erscheint. Parawasserstoff ist aufgrund des Übergangsverbots zwischen Singulett- und Triplettzuständen NMR-inaktiv.

3.2 Parawasserstoff induzierte Polarisation

Wie im vorangegangenen Kapitel erläutert wurde, existieren im Magnetfeld für Orthowasserstoff drei energetisch aufgespaltene, symmetrische Triplettzustände, die mit T_{+1} , T_0 und T_{-1} bezeichnet werden. Parawasserstoff besetzt einen antisymmetrischen Singulettzustand S . Diese Bezeichnungen entstammen der Quantenmechanik, nach der ein Proton mit einem Kernspin von $\frac{1}{2}$ zwei Eigenzustände, $|\alpha\rangle$ oder $|\beta\rangle$, entsprechend den Ausrichtungsmöglichkeiten im Magnetfeld einnehmen kann. Im Wasserstoffmolekül kombinieren diese Eigenfunktionen zu einem Singulett- $S = 1/\sqrt{2} |\alpha\beta - \beta\alpha\rangle$ und den drei Triplett-Zuständen $T_{+1} = |\alpha\alpha\rangle$, $T_0 = 1/\sqrt{2} |\alpha\beta + \beta\alpha\rangle$ und $T_{-1} = |\beta\beta\rangle$.

Wie gezeigt, ist Parawasserstoff, der ausschließlich den antisymmetrischen Singulettzustand besetzt, NMR inaktiv. Dies ändert sich jedoch, wenn die Symmetrie des Parawasserstoffs, der für sich gesehen ein stark gekoppeltes A_2 -Spinsystem¹ darstellt, über eine chemische Reaktion gebrochen wird. Dies wird erreicht, indem man ihn paarweise auf ein ungesättigtes, unsymmetrisches System überträgt. Im einfachsten Fall erhält man so als Reaktionsprodukt ein 2-Spinsystem, in dem sich die übertragenen Protonen in unterschiedlicher chemischer, wie magnetischer Umgebung befinden. Bei der Übertragungsreaktion handelt es sich um eine katalytische Hydrierung, auf die in Kapitel 4 noch näher eingegangen wird. Die transferierten Protonen müssen aus einem Molekül stammen, damit ihre Paarkorrelation erhalten bleibt. Bei Überführung in ein AX-Spinsystem² erfolgt die Besetzung der Kernspinzustände des Hydrierproduktes nach Symmetriekriterien, d.h. es werden nur Zustände besetzt, deren Spinfunktionen die gleiche Symmetrie aufweisen, wie der Parawasserstoff, also Singulettcharakter besitzen.

Der Symmetriebruch bei der Überführung des A_2 -Spinsystems in ein AX-Spinsystem führt durch Mischen der S - und T_0 -Zustände des Wasserstoffes zu partiell gemischten S' - und T_0' -Zuständen, deren Aufspaltung im Magnetfeld in Abb. 3.2-1 dargestellt ist.

¹ Ein stark gekoppeltes Spinsystem liegt vor, wenn die Verschiebungsdifferenz $\Delta\delta$ der koppelnden Kerne klein gegenüber der Kopplungskonstanten J ist.

² Die Verschiebungsdifferenz beträgt mindestens das 10fache der Kopplungskonstanten.

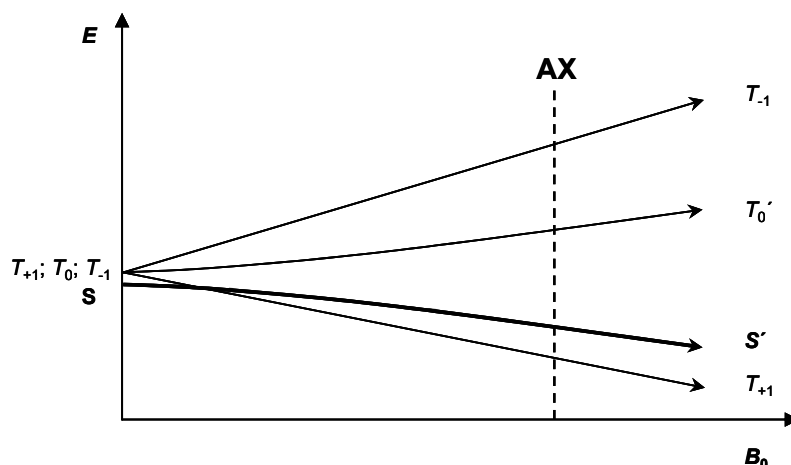


Abbildung 3.2-1: *Aufspaltung der Kernspinzustände eines AX-Spinsystems im Magnetfeld*

Während die Zustandsfunktionen T_{+1} und T_{-1} , also $|\alpha\alpha\rangle$ und $|\beta\beta\rangle$ sowohl bei schwacher als auch bei starker Kopplung Eigenfunktionen sind, ist die Symmetrie der Zustände mit Gesamtspin $I_{\text{ges}} = 0$ abhängig von der Art des Spinsystems. Im Falle eines AX-Spinsystems sind die Spinfunktionen $|\alpha\beta\rangle$ und $|\beta\alpha\rangle$ Eigenfunktionen und lassen sich als Linearkombination der S - und T_0 - Zustandsfunktionen darstellen. Demnach haben diese beiden Eigenfunktionen gleichen Singulett- und Triplettanteil und werden daher mit gleicher Wahrscheinlichkeit von Parawasserstoff besetzt. Bei der Hydrierung mit thermischem Wasserstoff findet eine Besetzung der Energieniveaus dieses Produktspinsystems annähernd gemäß der Boltzmann-Verteilung statt. Die unterschiedliche Besetzung der Kernspinniveaus mit den möglichen Übergängen und den daraus resultierenden Signalabfolgen sind in Abb. 3.2-2 a) und b) gegenübergestellt. Durch die ausschließliche Besetzung der Kernspinzustände mit Singulettcharakter bei der Hydrierung mit Parawasserstoff lassen sich im entsprechenden NMR-Spektrum für ein 2-Spinsystem vier charakteristische Antiphasensignale beobachten, die durch die Kopplung der übertragenen Kerne zueinander aufgespalten sind. Diese Signalmuster gestatten damit eine deutliche Identifizierung der durch den Parawasserstoff übertragenen Protonen.

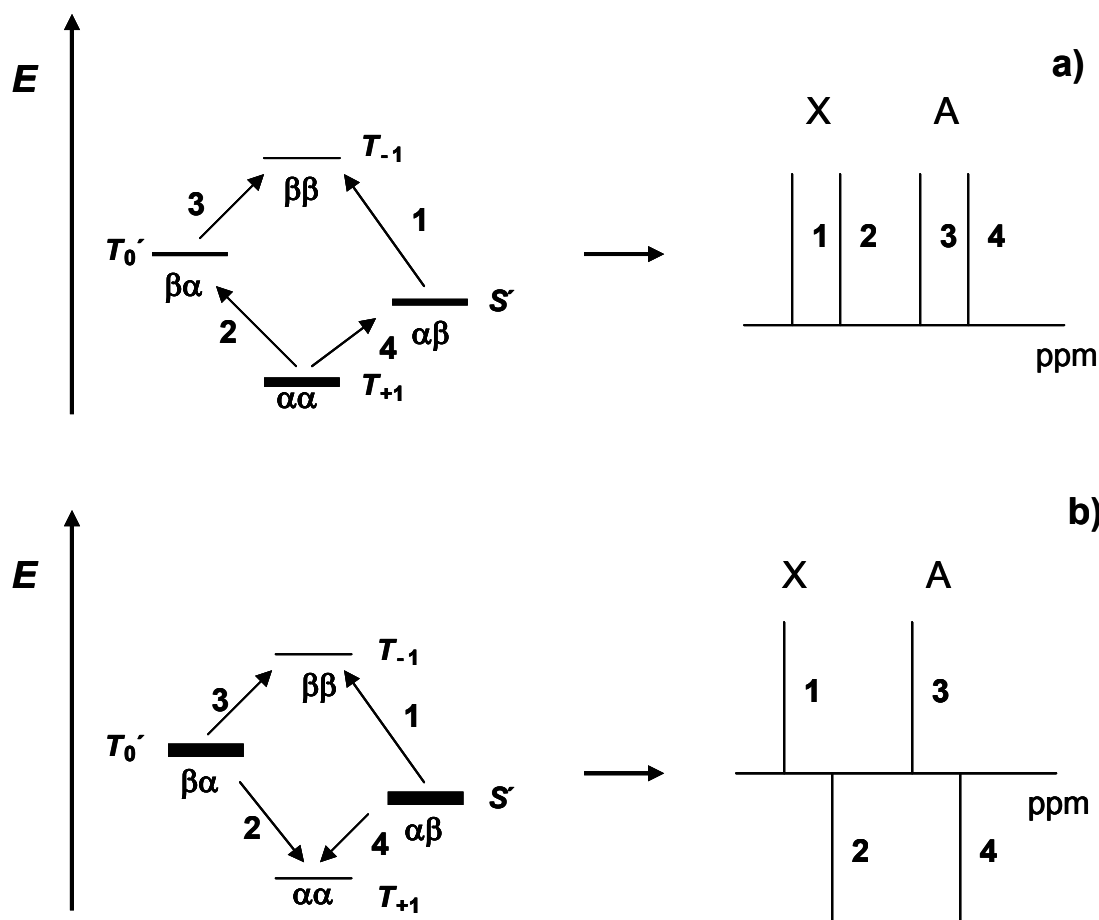


Abbildung 3.2-2: Populationsmodelle eines AX-Spinsystems mit Darstellung der möglichen Übergänge und den daraus resultierenden Signalmustern
 a) für die Hydrierung mit thermischem Wasserstoff
 b) für die Hydrierung mit Parawasserstoff

Darüber hinaus kann durch das beschriebene Verfahren eine Signalüberhöhung für die übertragenen Protonen bis zu einem Faktor von 10^4 erreicht werden. Diese beachtliche Empfindlichkeitssteigerung gestattet die Detektion auch geringer Substratkonzentrationen, die sich sonst NMR-spektroskopisch im Standardspektrum nicht erfassen lassen. Der maximal erreichbare Überhöhungsfaktor für ein PHIP-NMR-Spektrum ergibt sich anschaulich aus der Betrachtung des Besetzungsunterschiedes der Kernspinniveaus, welcher mit der Übergangswahrscheinlichkeit korreliert und damit für die im NMR-Experiment erzielte Signalintensität maßgeblich ist. Gemäß der Boltzmann-Verteilung ergibt sich für das Standard-NMR-Experiment bei einem Feld von 4.7 Tesla für Protonen bei Raumtemperatur ein Besetzungsunterschied von 1.6×10^{-5} .

Die durch das PHIP-Experiment erzielte selektive Besetzung einzelner Kernspinniveaus liefert einen Besetzungsüberschuss von maximal 1, was dann einer theoretischen Signalüberhöhung von 10^5 entspricht. In der Praxis kann dieser Faktor nicht ganz erreicht werden, da zum einen nicht mit 100%-ig angereichertem Parawasserstoff hydriert wird und zum anderen die erzeugte Polarisation Relaxationsphänomenen unterliegt. Dennoch liegen die in Experimenten tatsächlich erzielten Signalverstärkungen in einem Bereich, der die Empfindlichkeit eines Standard-NMR-Experimentes um Größenordnungen übersteigt.

Die im Falle der Hydrierung mit Parawasserstoff von der Boltzmann-Verteilung abweichende Besetzung bezeichnet man als Kernspinpolarisation oder besser als Kernspinhyperpolarisation. Der Begriff Polarisation beschreibt letztendlich eine Ungleichverteilung. Durch die Boltzmann-Verteilung ist jedoch bereits eine Ungleichbesetzung der Kernspinniveaus gegeben. Die durch den PHIP-Effekt erzielte darüber hinausgehende Polarisation sollte folglich als Hyperpolarisation bezeichnet werden. Im Folgenden soll jedoch die bisher gebräuchliche Bezeichnung "Polarisation" verwendet werden.

Inzwischen konnte gezeigt werden [48], dass auch bei der Hydrierung mit nicht angereichertem Wasserstoff eine durch die Hydrierreaktion von der Boltzmann-Verteilung abweichende Besetzung der Kernspinniveaus detektierbar ist. Dieses Phänomen wird als HIP-Effekt (Hydrogen Induced Polarization) bezeichnet.

Alle NMR-Experimente, die unter Verwendung von Parawasserstoff stattfinden, werden im Folgenden mit dem Überbegriff PHIP-Spektroskopie bezeichnet. Ursprünglich wurde, wie erwähnt, das Akronym PASADENA zur Beschreibung des Effektes von Bowers und Weitekamp verwendet. Grundsätzlich müssen jedoch zwei verschiedene Reaktionsführungen für ein PHIP-Experiment unterschieden werden. Die Hydrierung des eingesetzten Substrates kann innerhalb des Spektrometers, also im starken Magnetfeld, erfolgen oder es erfolgt eine Hydrierung der vorbereiteten Mischung außerhalb des Spektrometers, also im schwachen Erdmagnetfeld, gefolgt von der anschließenden Überführung der Probe in das Spektrometer. Es hat sich daher als sinnvoll erwiesen, die Abkürzung PHIP als Oberbegriff des Phänomens zu verwenden und andere Akronyme zu benutzen, um zwischen den beiden Experimentführungen zu unterscheiden. Dies ist notwendig, weil die Experimente, durch unterschiedliche Randbedingungen, im Spektrum andere Signalmuster und Intensitäten zeigen.

Bei der Durchführung des Experiments unter PASADENA-Bedingungen erfolgt die Hydrierung innerhalb des Magnetfeldes. Man gelangt so zu der in Abbildung 3.2-3 b) dargestellten Besetzung der Kernspinniveaus und dem entsprechenden Signalmuster. Wird die Hydrierung mit Parawasserstoff außerhalb des Magnetfeldes durchgeführt und die Probe erst anschließend in das Spektrometer eingebracht, spricht man von ALTADENA-Bedingungen. Dieses Experiment basiert auf einem verwandten Effekt, führt allerdings zu anderen Signalformen.

Unter ALTADENA-Bedingungen erfolgt die Übertragung des Parawasserstoffes im schwachen Erdmagnetfeld von ca. 5×10^{-5} T. Bei dieser Feldstärke liegt bezüglich der übertragenen Protonen auch im Hydrierprodukt stets ein stark gekoppeltes Spinsystem vor. Eine Verschiebungsdifferenz von 1000 Hz im Spektrometerfeld von 4.7 Telsa reduziert sich in diesem Feld auf 0.1 Hz. Bei der Hydrierung mit Parawasserstoff wird dann folglich nur der Kernspinzustand besetzt, der unter diesen Bedingungen Singulett-Symmetrie aufweist. Das ist gemäß Abbildung 3.2-1 der S-Zustand. Findet der anschließende Transport der Probe in das Spektrometer adiabatisch statt, führt der Symmetriebruch durch das starke Magnetfeld wieder zu einer entsprechenden Aufspaltung der Kernspinniveaus, jedoch ohne Änderung der Population. In Abbildung 3.2-3 sind die durch unterschiedliche Experimentmethoden erzeugten Niveau-Besetzungen und die resultierenden Signalmuster gegenübergestellt.

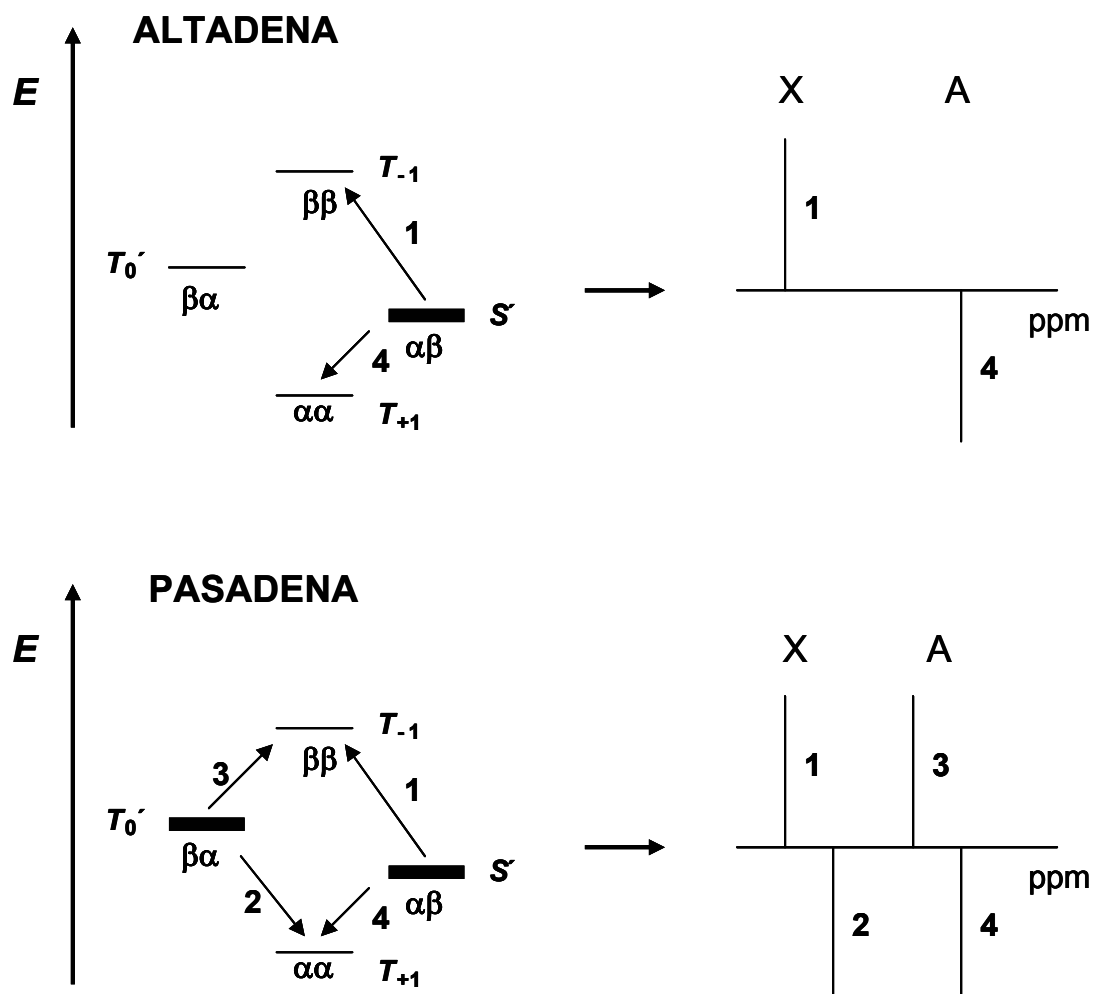


Abbildung 3.2-3: Gegenüberstellung der Besetzung der Kernspinniveaus im AX-System und der resultierenden Signalmuster bei unterschiedlicher Reaktionsführung

Warum und wann eine dieser Methoden zu bevorzugen ist, soll im Folgenden bei der Erläuterung der durchgeführten Experimente eingehender beschrieben werden. Grundsätzlich sind folgende Aspekte von besonderer Bedeutung:

- Die Hydrierung unter PASADENA-Bedingungen erfolgt innerhalb des Spektrometers. Der Parawasserstoff wird mit geringem Druck in das offene Röhrchen eingeleitet (Kap. 13).

Vorteil: Der erste Detektionspuls kann bereits eine Sekunde nach der Wasserstoffeinleitung erfolgen. Der Reaktionsverlauf kann in situ im Spektrometer verfolgt werden. Die Experimentführung ist in allen Schritten rechnergesteuert und daher vollständig reproduzierbar. Unter der Voraussetzung gleicher

Ausgangskonzentrationen können so die Signalintensitäten in Relation gesetzt werden, was besonders im Hinblick auf Polarisationstransfer-Experimente von besonderer Bedeutung ist.

Nachteil: Durch den geringen Wasserstoffdruck lassen sich keine hohen Umsatzraten erzielen, was sich in geringeren Signalintensitäten widerspiegelt.

- Für Messungen unter ALTADENA-Bedingungen findet die Hydrierung außerhalb des Spektrometers statt (Kap.13). Die Reaktion kann daher in einem Probenröhrchen erfolgen, das einem Wasserstoffdruck von mindestens 5 bar standhält.

Vorteil: Die höhere Wasserstoffkonzentration in der Lösung bedingt größere Umsatzraten und man gelangt so zu intensiveren Polarisationsignalen.

Nachteil: Der Detektionspuls kann erst einige Sekunden nach Initiierung der Reaktion gesetzt werden. Eine in situ Verfolgung des gesamten Reaktionsverlaufes ist so nicht möglich. Die Reaktion wird durch kräftiges Schütteln des Probenröhrchens in Gang gesetzt und selbiges dann mehr oder weniger schnell in das Spektrometer verbracht. Dies veranschaulicht die Einflussnahme eines, durch den Experimentator bedingten subjektiven Faktors, der für die im resultierenden Spektrum erzielte Signalintensität verantwortlich ist. Es ist also nicht möglich, so über ALTADENA-Messungen, unter sonst gleichen Bedingungen, die erhaltenen Signalintensitäten in Bezug zu setzen.

Grundsätzlich müssen zur Beobachtung des PHIP-Effektes in allen Fällen bestimmte Voraussetzungen erfüllt sein:

- Die transferierten Protonen müssen aus einem Molekül stammen und unter Erhaltung ihrer Spinkorrelation übertragen werden. Dies bedeutet, dass die Übertragung des Parawasserstoffes auf das eingesetzte Substrat paarweise erfolgen sollte, was bei den meisten homogen katalysierten Reaktionen gegeben ist. Unter bestimmten Umständen kann der PHIP-Effekt auch bei einem Hydriermechanismus beobachtet werden, der keinen paarweisen Transfer der Protonen beinhaltet [49].

Dieses Phänomen tritt im Rahmen einer Hydroformulierung auf, wenn die beiden Protonen im Dihydrido-Intermediat des Übergangsmetallkatalysators ein stark gekoppeltes Spinsystem bilden. Dieser Effekt wird als Ein-Proton-Polarisation bezeichnet und wurde bereits 1997 theoretisch vorausgesagt [50].

- Die Wasserstoffatome müssen im Produktmolekül nach der Hydrierung unterscheidbar sein. Die Symmetrie der übertragenen Protonen muss dergestalt gebrochen werden, dass sie im Produktspinsystem magnetisch inäquivalent und skalar gekoppelt sind. Der PHIP-Effekt kann daher auch an symmetrischen Verbindungen beobachtet werden. Hier bricht die unterschiedliche Kopplung der übertragenen Protonen zu jeweils nur einem ^{13}C -Kern die Symmetrie, denn die geringe natürliche Häufigkeit von ^{13}C bewirkt den notwendigen Symmetriebruch [51].

3.3 Anwendungen

Die PHIP-NMR-Spektroskopie hat sich in den vergangenen Jahren als ein hilfreiches Instrument für eine Vielzahl von Untersuchungen erwiesen [31, 52]. Durch das Auftreten von charakteristischen Polarisationsignalen und der damit verbundenen drastischen Intensitätssteigerung lassen sich zum Beispiel wichtige Informationen über den Mechanismus verschiedener Hydrierreaktionen oder das Auftreten von Nebenreaktionen gewinnen. Die starke Signalüberhöhung gestattet die in situ Detektion von Reaktionsintermediaten, wie zum Beispiel von Katalysator-Dihydrid-Komplexen oder Produktanbindungskomplexen [53-56].

Eine der prinzipiellen Bedingungen für das Auftreten von Polarisationsignalen liefert umgekehrt auch den Nachweis für eine paarweise Übertragung des Wasserstoffs auf das Substrat [57]. In der thermischen NMR-Spektroskopie sind Edukte, die infolge einer Rückreaktion entstehen, aufgrund ihrer chemischen und magnetischen Eigenschaften nicht von den ursprünglich eingesetzten zu unterscheiden. Das Auftreten reversibler Schritte in Katalysezyklen kann jedoch die Stereoselektivität herabsetzen. Durch die PHIP-Methode, die eine magnetische Markierung der übertragenen Protonen beinhaltet, ist es möglich, reversible Teilschritte im Katalysezyklus zu identifizieren [58].

Des Weiteren liefern die auftretenden Signalmuster wertvolle Informationen über die Regio- und Stereoselektivität der untersuchten Reaktion [59].

PHIP-Experimente eignen sich auch zur Ermittlung kinetischer Konstanten bestimmter Hydrierreaktionen [60-63]. Die Identifikation der Hydrierpositionen der übertragenen Wasserstoffatome lässt auch die Detektion von Produkten einer Konkurrenzreaktion zu, die mitunter in sehr geringen Konzentrationen entstehen. In Verbindung mit einem dynamischen Messverfahren und einer quantitativen Auswertung können so Aussagen über die Selektivität der untersuchten Reaktion gemacht werden [64]. Der Polarisationstransfer auf benachbarte Heteroatome kann wichtige Informationen zur Strukturaufklärung liefern und eröffnet ein weiteres Anwendungsfeld des PHIP-Effektes [38, 39, 65]. Dieser Transfer soll wegen seiner Bedeutung für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimente in Kapitel 6 noch ausführlich vorgestellt werden.

4. Die Hydrierreaktion

Wie im vorangegangenen Kapitel erläutert wurde, stellt die Übertragung des Parawasserstoffs auf ein ungesättigtes, unsymmetrisches Substratmolekül den zentralen Schritt bei der Erzeugung polarisierter Spinsysteme dar. Bei der Übertragungsreaktion handelt es sich um eine homogen katalysierte Hydrierung, die schematisch in Abbildung 4-1 dargestellt ist. Die nach dem erfolgten Transfer des Parawasserstoffes detektierbare Polarisation unterliegt bestimmten Relaxationsprozessen, was dazu führt, dass die so erzeugten, verstärkten Signale der übertragenen Protonen über einen bestimmten, systemabhängigen Zeitraum wieder abklingen. Im Anschluss lassen sich dann nur noch die so genannten thermischen Signale des entsprechenden Substrates beobachten.

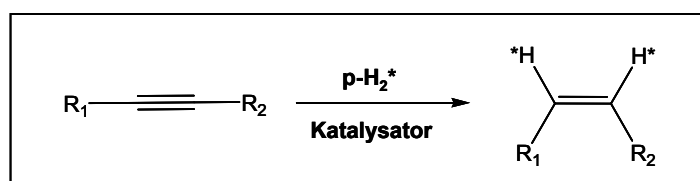


Abbildung 4-1: Hydrierreaktion zur Übertragung des Parawasserstoffs

Für diese Reaktion eignen sich eine Vielzahl organischer, ungesättigter Systeme. Es können Alkine und Alkene mit unterschiedlichen Substituenten umgesetzt werden, was die magnetische Markierung verschiedenster ungesättigter und gesättigter Substrate auf diesem Wege erlaubt. Die erzielten Signalintensitäten in den entsprechenden Spektren werden jedoch stark von der Umsatzrate der Hydrierreaktion beeinflusst. In Abhängigkeit vom eingesetzten Substrat werden so deutlich abweichende Signalüberhöhungen detektiert.

Das eingesetzte Katalysatorsystem spielt bei diesen Reaktionen natürlich eine entscheidende Rolle. Im Rahmen dieser Arbeit werden die dargestellten Experimente ausschließlich unter Verwendung eines für diese Zwecke sehr gut untersuchten Rhodiumkatalysators durchgeführt. Dieses Katalysatorsystem zeigt eine hohe Hydrieraktivität gegenüber einer Vielzahl von ungesättigten Verbindungen und ist daher für die angestrebten Untersuchungen sehr gut geeignet [66-68].

Der eingesetzte Präkatalysator, der nach Entfernung des Cyclooctadienliganden katalytisch aktiv wird, ist in Abbildung 4-2 dargestellt.

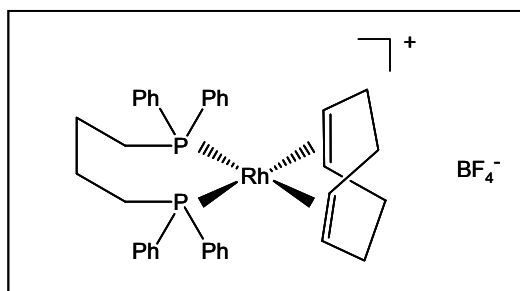


Abbildung 4-2: Darstellung des eingesetzten Katalysators Rhodium(I)-[1,4-bis-(diphenylphosphino)butan]-(1Z,5Z-cyclooctadien)-tetrafluoroborat

Neben der breiten Anwendbarkeit des gezeigten Katalysatorsystems mit seinen effektiven Hydriereigenschaften ist prinzipiell die Kenntnis der möglichen Einzelschritte im Hydrierkreislauf rhodiumkatalysierter Reaktionen von großem Vorteil, da diese die notwendigen Voraussetzungen für das Zustandekommen des PHIP-Effektes erfüllen müssen. Der Ablauf einer solchen katalytischen Hydrierung kann vereinfacht nach zwei möglichen Kreisläufen stattfinden, die sich lediglich durch die Reihenfolge (bzw der Relation ihrer kinetischen Konstanten) der ersten beiden Reaktionsschritte unterscheiden.

Abbildung 4-3 zeigt das Schema einer der möglichen Reaktionsrouten, die nach J. Halpern für solche Systeme durchlaufen werden [69]. Nach der vorgelagerten Aktivierung des Präkatalysators durch Abhydrierung des Cyclooctadienliganden erfolgt die Ausbildung eines Katalysator-Substrat-Komplexes durch die Verdrängung des Lösungsmittels. Anschließend wird der Wasserstoff durch oxidative Addition an das Metallzentrum des Katalysators gebunden. Nach der Insertion des Substrates in die Metall-Hydrid-Bindung wird der Katalysator durch reduktive Eliminierung des hydrierten Produktes wieder freigesetzt.

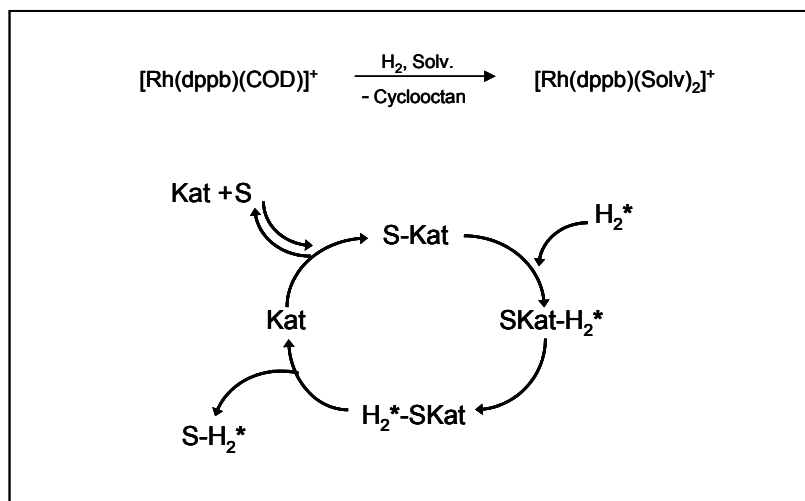


Abbildung 4-3: Schematische Darstellung der ungesättigten Route nach J. Halpern mit vorgelagerter Katalysatoraktivierung

Bei der Hydrierreaktion werden also verschiedene Übergangszustände durchlaufen, die in starkem Maß sowohl von der räumlichen als auch von der elektronischen Struktur des umzusetzenden Substrats beeinflusst werden. Dieser Punkt spielt vor allem für die erzielten Umsatzraten der untersuchten Reaktion eine entscheidende Rolle.

5. Relaxation

Die Intensität der in einem PHIP-Experiment detektierten Polarisations-signale wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Hierbei spielt die sofort nach der Generierung des Polarisierungseffektes einsetzende Relaxation eine tragende Rolle.

Der Effekt, der die Rückkehr eines Spinsystems aus einem angeregten Zustand in das entsprechend der Boltzmann-Verteilung für eine gegebene Temperatur erwartete Gleichgewicht beschreibt, wird als Relaxation bezeichnet.

Der Begriff *Relaxation* stammt aus dem Lateinischen und bedeutet, wörtlich übersetzt, „Beruhigung“. Dieser Vorgang impliziert einen Energieaustausch zwischen dem Spinsystem und seiner Umgebung, dem sog. "Gitter" [5]. Dieses Gitter besteht aus benachbarten Kernen desselben Moleküls sowie aus allen anderen umgebenden Molekülen, die das Spinsystem beeinflussen. Die Relaxation wird durch die Kinetik natürlicher Prozesse mit exponentieller Funktionalität beschrieben. Die Zeitkonstante für den Wiederaufbau der Magnetisierung entlang des B_0 -Feldes nach einer Störung, z.B. durch einen Anregungspuls, wird mit T_1 , die für den Abbau der transversalen Magnetisierung mit T_2 bezeichnet. Mit diesen Zeitkonstanten werden zwei unterschiedliche Prozesse erfasst, die Spin-Gitter-Relaxation (T_1) und die Spin-Spin-Relaxation (T_2). Im Fall der Spin-Gitter-Relaxation erfolgt ein Energieaustausch zwischen dem angeregten Spinsystem und seiner Umgebung, dem Gitter. Die Translations- und Rotationsbewegungen der Moleküle verursachen fluktuierende, lokale Felder, deren Größe zeitabhängig ist. Enthalten diese Felder Frequenzen, die den Übergängen zwischen Eigenzuständen des Spinsystems entsprechen, kann ein solcher Energieaustausch stattfinden. Bei der Spin-Spin-Relaxation kommt es zu einem Verlust der Phasenkohärenz zwischen den magnetischen Momenten der Kerne, was zu einem Abbau der detektierbaren Quermagnetisierung führt. Hierbei handelt es sich im Gegensatz zur Spin-Gitterrelaxation um einen rein entropischen Effekt.

Der Relaxation liegen Mechanismen zugrunde, die durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften des beobachteten Systems bestimmt werden [3, 4]. Für die Spinrelaxation kann daher eine Vielzahl von intra- oder intermolekularen physikalischen Wechselwirkungen verantwortlich sein.

Grundsätzlich unterscheidet man zwischen vier möglichen Relaxationsmechanismen:

- Relaxation durch anisotrope chemische Verschiebung (CSA: Chemical Shift Anisotropy)

$$\frac{1}{T_1^{CSA}} = \frac{2}{15} \gamma^2 B_0^2 (\sigma_{\parallel} - \sigma_{\perp})^2 \tau_c \quad (5.1)$$

In der obigen Gleichung beschreibt γ das magnetogyrische Verhältnis, B_0 die Feldstärke, $\sigma_{\parallel, \perp}$ den Abschirmungstensor des Moleküls in verschiedenen Orientierungen und τ_c die Korrelationszeit.

- Spin-Rotations-Relaxation (SR)

$$\frac{1}{T_1^{SR}} = \frac{I_i^2}{3\hbar^2} C_{eff}^2 \frac{1}{\tau_c} \quad (5.2)$$

Hier bezeichnet I_i den Eigendrehimpuls des Moleküls und C_{eff} die effektive Kopplungskonstante der Spin-Rotations-Relaxation.

- Quadrupolare Relaxation (Q)

$$\frac{1}{T_1^Q} = \frac{3\pi^2}{10} \left(\frac{2I+3}{I^2(2I-1)} \right) \left(1 + \frac{\eta_s}{3} \right) \chi^2 \tau_c \quad (5.3)$$

I repräsentiert den Kernspin, η_s den Asymmetrieparameter des Moleküls und χ die quadrupolare Kopplungskonstante.

- Dipol-Dipol-Relaxation

$$\frac{1}{T_1^{DD}} = \frac{4\gamma_I^2 \gamma_S^2 \hbar^2 S(S+1)}{3r_{IS}^6} \tau_c \quad (5.4)$$

I und S beschreiben hier zwei miteinander wechselwirkende Kernspins.

Die resultierende Gesamtrelexationsrate, die sich additiv aus den Einzelraten ergibt (5.5), hängt von der Gewichtung des entsprechenden Relaxationsmechanismus ab.

$$\frac{1}{T} = \frac{1}{T_Q} + \frac{1}{T_{DD}} + \frac{1}{T_{CSA}} + \frac{1}{T_{SR}} \quad (5.5)$$

Aus den obigen Gleichungen geht deutlich hervor, dass die Korrelationszeit τ_c für die Effektivität der Relaxation in jedem Fall einen entscheidenden Faktor darstellt. Die Korrelationszeit ist ein Maß für die Beweglichkeit eines Moleküls und gibt an, wie viel Zeit das betrachtete System benötigt, um seine Orientierung um einen gewissen Betrag zu ändern. Sie hängt gemäß der Stokes-Einstein-Debye-Gleichung (5.6) von der Temperatur T , dem Volumen V , der Boltzmann-Konstante k und der Gesamtviskosität des Lösungsmittels η_V ab.

$$\tau_c = \frac{V\eta_V}{kT} \quad (5.6)$$

Für Spins mit einer Kernspinquantenzahl von $I = 1/2$ sind die dominierenden Mechanismen die DD- und die CSA-Relaxation. Die quadrupolare Relaxation spielt nur bei Kernen mit größeren Kernspinquantenzahlen eine Rolle. Für die skalare Relaxation ist eine zeitliche Änderung der Kopplungskonstante zwischen den betrachteten Kernen Bedingung, die in den untersuchten Systemen keinen wesentlichen Beitrag liefert.

Die CSA-Relaxationsrate ist mit der chemischen Verschiebungsbreite des entsprechenden Kerns korreliert.

Durch die unterschiedliche elektronische Umgebung der Kerne wird das lokale Magnetfeld modifiziert, woraus eine andere chemische Verschiebung resultiert. Diese lokalen Felder sind anisotrop, d.h. ihre Komponenten im Referenzsystem variieren durch die molekulare Bewegung. Diese variierenden Magnetfelder sind die Voraussetzung für diesen Relaxationsmechanismus und nur für Kerne mit einem großen Verschiebungsbereich wirksam.

Neben der CSA-Relaxation trägt für Atomkerne mit der Kernspinquanzahl $I = \frac{1}{2}$ hauptsächlich die Dipol-Dipol-Wechselwirkung zur Spin-Gitter-Relaxation bei. Die dipolare Relaxation ist stark abstandsabhängig und wird ebenfalls durch die Bewegung der Moleküle in Lösung ermöglicht. Diese Bewegung führt zu einer Fluktuation des dipolaren Magnetfelds, das jeder Kern mit einem magnetischen Moment proportional zu diesem erzeugt. Die Relaxationsraten dieses Mechanismus sind proportional zu den magnetogyrischen Verhältnissen der beiden Kerne, der Korrelationszeit und dem Inversen der 6. Potenz ihres Abstandes. Protonen haben ein großes magnetogyrisches Verhältnis. Für die Relaxation von solchen Kernen sind daher Dipol-Dipol-Wechselwirkungen hauptverantwortlich.

Kreuzkorrelierte Relaxationsraten, wie z.B. die DD,CSA- oder DD,DD-Relaxation, sind Interferenzeffekte der autokorrelierten Kreuzrelaxationsraten wie der DD-Relaxation, die zum NOE (Nuclear Overhauser Effect) führt. Die DD-Relaxation hängt, wie erläutert, vom Abstand der beteiligten Kerne ab, die DD,DD-Relaxation zusätzlich vom Winkel zwischen den Hauptachsen der wirksamen Mechanismen zwischen den betroffenen Kernen.

Zur Messung von Spin-Gitter-Relaxationszeiten der in einem Standard-NMR-Spektrum detektierten thermischen Signale werden Routinemessungen, wie die Inversions-Erholungs-Methode [5], erfolgreich eingesetzt. Die Relaxationskinetik von Polarisationsignalen kann von der der entsprechenden thermischen Signale desselben Systems in deutlichem Maße abweichen [48, 70].

Für einen Vergleich des unterschiedlichen Relaxationsverhaltens von thermischen und Polarisationsignalen müssen die Wahrscheinlichkeiten W der einzelnen Relaxationsübergänge betrachtet werden. Diese Wahrscheinlichkeiten werden in Abhängigkeit von den damit verknüpften Ein-, Zwei- oder Nullquantenübergängen, mit W_1 , W_2 oder W_0 bezeichnet [71].

Diese Übergangswahrscheinlichkeiten sind in Abbildung 5.1 für ein schwach gekoppeltes AX-Spinsystem dargestellt. Für ein solches System ergeben sich acht mögliche Einquanten- und jeweils vier Zwei- und Nullquantenübergänge mit unterschiedlichen Wahrscheinlichkeiten.

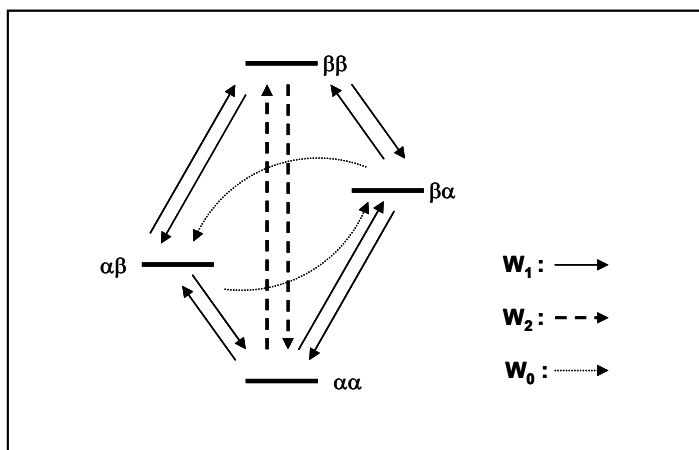


Abbildung 5-1: *Mögliche Übergänge für ein AX-Spinsystem*

Für Systeme mit geringen Korrelationszeiten, d.h. für kleine Moleküle in niederviskosen Lösungsmitteln, werden die Übergangswahrscheinlichkeiten wie folgt gewichtet:

$$W_2 > W_1 > W_0$$

Das bedeutet, dass für die im Zuge dieser Arbeit untersuchten Systeme die Doppel- und Einquantenübergänge für die Relaxationskinetik entscheidend sind.

Vergleicht man die Populationsmuster der Kernspinzustände eines thermischen Systems mit einer durch den PHIP-Effekt generierten Population (Abb. 3.2-2), so wird deutlich, dass durch die selektive Besetzung angeregter Kernspinzustände im polarisierten Produkt Einquantenübergänge in verschiedenen Richtungen stattfinden können. Diese Tatsache spiegelt sich dann im Spektrum durch das Auftreten von Antiphasensignalen wider und zeigt gleichsam eine Verdopplung der möglichen Einquantenübergänge auf, die eine beschleunigte Relaxation ermöglichen. Als Konsequenz erwartet man dann eine im Vergleich zu thermischen Signalen um die Hälfte verkürzte Relaxationszeit, was auch für bestimmte Systeme bestätigt werden konnte [70].

Neben diesen Einquantenkohärenzen müssen jedoch auch Mehrquantenkohärenzen, vor allem die Doppelquantenkohärenzen (siehe oben), in die Betrachtung der Relaxationskinetik mit einbezogen werden. Für das in Abbildung 5-1 dargestellte 2-Spinsystem lässt sich erkennen, dass bei ausschließlicher Besetzung des $\alpha\beta$ - und des $\beta\alpha$ -Zustands die gezeigten W_0 - und W_2 -Übergänge inaktiv sein müssen, da sie zwischen gleich besetzten Niveaus stattfinden. Die ^1H -Relaxation wird wie erläutert vorwiegend durch dipolare Wechselwirkungen mit anderen Protonen bis zu einem Abstand von 5 Å und mit direkt gebundenen Heteroatomen bestimmt. Für ein System, das aus mehr als zwei Kernen besteht, müssen also zusätzliche Wechselwirkungen bzw. Relaxationskanäle berücksichtigt werden. In Abbildung 5-2 sind die möglichen W_2 -Übergänge dargestellt, die durch Mitwirkung eines dritten Kernes in einem polarisierten AMX-Spinsystem stattfinden können.

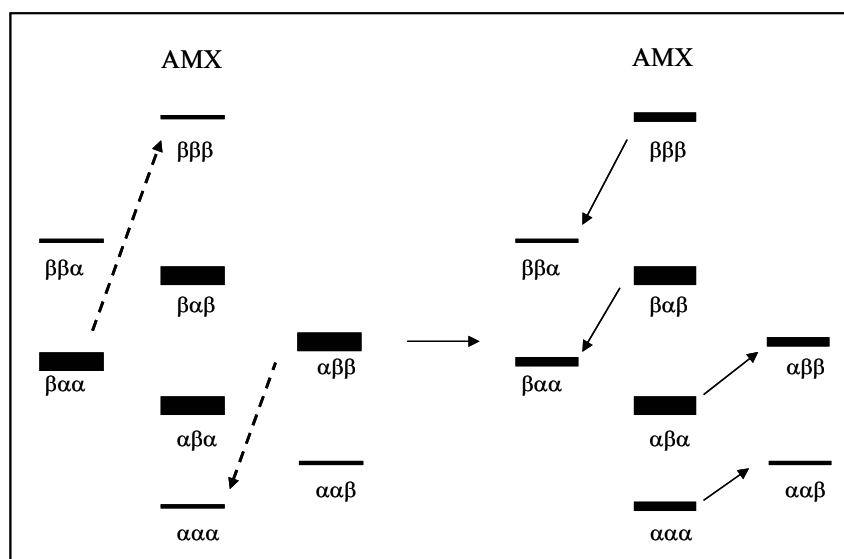


Abbildung 5-2: *Solomon – Schema der durch Wechselwirkung mit einem dritten Kern X möglichen Doppelquantenkohärenzen in einem AMX-Spinsystem bei Polarisationstransfer in die Positionen A und M (links) und die daraus resultierenden Übergänge zur Detektion von Kern X (rechts).*

Eine Übertragung des Parawasserstoffs in die Positionen A und M führt zu der im linken Teil der Abbildung 5-1 dargestellten Besetzung der Kernspinniveaus im Hydrierprodukt. Durch dipolare Wechselwirkung von Kern M mit Kern X werden dann die gezeigten W_2 -Übergänge ermöglicht.

Dies führt zu einer auch im Hinblick auf Kern X von der Boltzmann-Verteilung abweichenden Besetzung (rechts), welche dann auch für diesen Kern die Detektion verstärkter Antiphasensignale ermöglicht. Dieses als NOE (Nuclear Overhauser Effect) bezeichnete Phänomen wird auch in Standard-NMR-Experimenten beobachtet, in denen durch Anregung einer empfindlichen Kernsorte (^1H) Polarisation auf einen unempfindlicheren Kern (z.B. ^{13}C) übertragen wird [5]. Bedingt durch die deutliche Abstandsabhängigkeit dieser dipolaren Wechselwirkung (Gl. 5.4) können zum Beispiel Rückschlüsse auf den Abstand bestimmter Kerne im Molekül zueinander gezogen und sogar Torsionswinkel unabhängig von der Messung der Kopplungskonstanten mit einer Präzision von wenigen Grad bestimmt werden [72].

Im Hinblick auf die Relaxationskinetik der polarisierten Protonen liefert dieser Effekt also einen zusätzlichen Relaxationskanal, dem, bedingt durch die großen Besetzungsdifferenzen, ein größeres Gewicht, als im Standard-NMR-Experiment zukommt. Alle bisher erläuterten Faktoren sollten also zu einer Beschleunigung der Relaxation für polarisierte Spinsysteme führen.

An dieser Stelle soll nun ein weiterer Aspekt Berücksichtigung finden, der zu einer stark veränderten Relaxationskinetik von polarisierten Spinsystemen beitragen kann. Eine Betrachtung der Symmetrieeigenschaften der beteiligten Kernspinzustände liefert einen Ansatz, der eine deutliche Verzögerung der Relaxation für bestimmte Spinsysteme aufzeigt. Auch durch Anwendung einer bestimmten Pulssequenz auf ein AX-Spinsystem kann eine Überbesetzung von Kernspinzuständen mit Singulettsymmetrie erzeugt werden [73, 74]. Sowohl durch eine Zwischenlagerung des Systems im schwachen Erdmagnetfeld als auch durch einen Spinlock kann die induzierte Polarisation dann über einen großen Zeitraum bestehen bleiben. Dies äußert sich in einer Verlängerung der Relaxationszeit um einen Faktor von sieben für bestimmte Spinsysteme. Die Gültigkeit dieses Ansatzes zur Relaxationszeitverlängerung konnte auch für die Parawasserstoff-induzierte Polarisation bestätigt werden [48]. Diese "Speicherung" der Besetzungsverhältnisse gelingt, da in einem stark gekoppelten A_2 -Spinsystem nur einer der vier möglichen Kernspinzustände Singulettsymmetrie besitzt. Übergänge von diesem Kernspinniveau zu den drei übrigen Triplettzuständen sind so symmetrieverboten. Bei einer Lagerung des Systems im schwachen Erdmagnetfeld hat man es bezüglich der übertragenen Protonen grundsätzlich mit einem stark gekoppelten Spinsystem zu tun, da hier der Unterschied der Präzessionsfrequenzen nur einige mHz beträgt.

Erst die Überführung eines solchen Systems in das Magnetfeld des Spektrometers ermöglicht durch partielle Mischung des Singulett- und des T_0 -Zustandes (Kap. 3.2) die für die Relaxation maßgeblichen Übergänge.

Für ein gegebenes Spinsystem hängt die Relaxationszeit der polarisierten Kerne also von diversen Faktoren ab, was eine Abschätzung der individuellen Relaxationszeiten kaum zulässt. Im Zuge dieser Arbeit wurden also die entsprechenden Relaxationszeiten für einige interessante Systeme experimentell ermittelt. Die eingesetzte Messmethode wird in Kapitel 10 anhand eines Beispiels erläutert, da die sonst üblichen Standard-Experimente zur Relaxationszeitbestimmung an polarisierten Systemen nicht angewandt werden können.

6. Polarisationstransfer auf Heterokerne

Wie bereits erläutert, kommt dem Polarisationstransfer auf Heterokerne insbesondere auf den ^{13}C -Kern ein, für diese Arbeit, maßgeblicher Stellenwert zu. In diesem Kapitel sollen daher die bisher grundlegenden Erkenntnisse auf diesem Gebiet in einem Überblick dargestellt werden.

Die mit dem PHIP-Effekt verknüpfte Erzeugung stark überhöhter Antiphasensignale ist nicht nur auf Protonen beschränkt. Die so erzeugte Polarisation hat auch einen Einfluss auf benachbarte Heterokerne. Bereits 1989 konnte an der Universität von Rochester in der Gruppe von R. Eisenberg gezeigt werden [38], dass bei der Durchführung eines PHIP-Experimentes auch Polarisationssignale für einen Heterokern, hier ^{31}P , detektiert werden können. Bei der oxidativen Addition von Parawasserstoff an Vaska-analoge Iridiumkomplexe wurden deutliche Antiphasensignale für die ^{31}P -Resonanzen der Phosphinliganden im resultierenden Dihydridkomplex nachgewiesen. Die entsprechende Reaktion, die außerhalb des Spektrometerfeldes durchgeführt wurde, ist anhand eines Beispiels in Abbildung 6-1 dargestellt. Für die Phosphorkerne konnte so, je nach System, eine sechs- bis zehnfache Signalverstärkung erzielt werden.

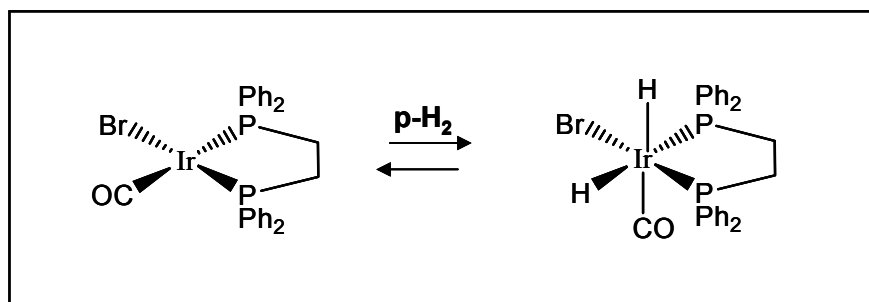


Abbildung 6-1: Addition von Parawasserstoff an einen Vaska-analogen Iridiumkomplex

Die Autoren beschrieben den Effekt als "INEPT in a Chemical Way", da für die gleichen Systeme auch ohne Übertragung von para-angereichertem Wasserstoff eine entsprechende Signalabfolge durch Anwendung der INEPT-Pulssequenz detektiert wurde. Als Übertragungsmechanismus, der für den Transfer der Polarisation von den Protonen auf den Phosphorkern verantwortlich ist, wurde ein dipolarer Mechanismus postuliert.

Die dipolare Relaxation über Doppelquantenübergänge, die zum NOE führt, ist stark abstandsabhängig (Kap. 5) und liefert eine für diese Systeme anschauliche Erklärung für den beobachteten Effekt.

Der in diesen Experimenten untersuchte Iridiumkomplex enthält noch einen weiteren NMR-aktiven Heterokern in Form des gebundenen Carbonylliganden. 1993 konnte bei Durchführung der gleichen Reaktion gezeigt werden, dass auch der ^{13}C -Kern dieses Liganden an der erzeugten Polarisation partizipiert [65]. Ein erfolgreicher Transfer auf diesen Kern wurde erstmalig schon 1989 in der Dissertation von T. C. Eisenschmid [75] dokumentiert, der bei der Hydrierung von ^{13}C -markiertem Styren- d_8 mit Parawasserstoff schwache Antiphasensignale auf den markierten Positionen beobachten konnte. Eines der eindrucksvollsten Experimente zum Polarisationstransfer auf ^{13}C wurde im Jahre 1995 von Barkemeyer *et al.* präsentiert. Bei der katalytischen Hydrierung eines symmetrischen Dreifachbindungssystems mit Parawasserstoff unter ALTADENA-Bedingungen konnte für das intensivitätsstärkste Signal im resultierenden ^{13}C -Spektrum eine Signalüberhöhung um den Faktor 2580 ermittelt werden [39]. Um in einem Standard-NMR-Experiment durch Akkumulation von Einzelspektren zu einem äquivalenten Signal/Rauschen-Verhältnis zu gelangen, das in diesem Experiment mit nur einer Aufnahme erzeugt werden konnte, müsste eine Messzeit von fast einem Jahr angesetzt werden. Diese Reaktion, die dann sechs Jahre später auch für die erfolgreiche Aufnahme des ^{13}C -Angiogramms einer Ratte eingesetzt wurde [40], ist in Abbildung 6-2 dargestellt.

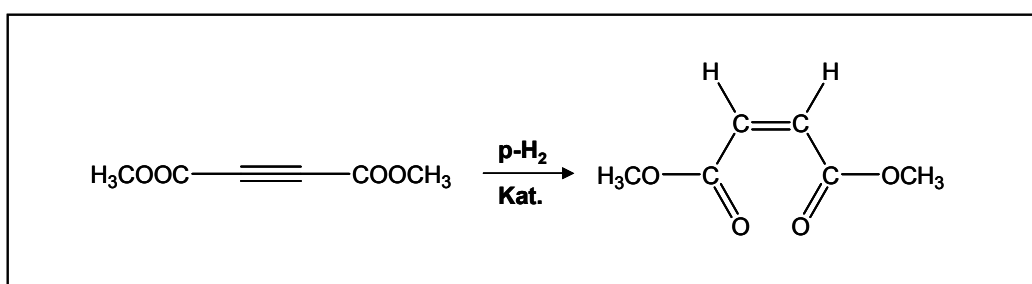


Abbildung 6-2: *Hydrierung von Acetylendicarbonsäuredimethylester zum Maleinsäuredimethylester*

Im entsprechenden Spektrum sind verstärkte Antiphasensignale sowohl für die olefinischen als auch für die Carbonylkohlenstoffkerne sichtbar.

Unter Berücksichtigung der geringen natürlichen Häufigkeit des ^{13}C -Kerns von 1,1% kann, statistisch gesehen, nur jeweils einer der vier im Molekül vorhandenen Kohlenstoffkerne NMR-aktiv sein. Das resultierende polarisierte Spinsystem kann dann unter Berücksichtigung des Heterokerns als $\text{AA}'\text{X}$ -Spinsystem betrachtet werden. Aus einer Analyse der Phasenlage und Signalintensitäten konnten Barkemeyer *et al.* eine schlüssige Beschreibung der Transfermechanismen für dieses symmetrische System entwickeln. Die Betrachtung der detektierten Effekte mit Hilfe des Spindichteformalismus führte hier zu gleichen Ergebnissen wie die Darstellung im Populationsübergangsmodell [76]. So konnte gezeigt werden, dass die dipolare Relaxation zwar durchaus einen Beitrag zu den erhaltenen Signalen liefert, aber für eine Klärung der beobachteten Effekte bei diesem System alleine nicht ausreicht. Erst durch Berücksichtigung der Kopplungen aller drei Kerne, die zu veränderten Populationen der beteiligten Kernspinniveaus führen, können die erhaltenen Signalmuster interpretiert werden.

Ein PHIP-Transfer auf Heterokerne kann nicht nur spontan, sondern auch durch Anwendung bestimmter Pulssequenzen erfolgen. Nach dem erstmaligen Einsatz einer INEPT-analogen Pulssequenz [65] zum Transfer auf ^{13}C wurden weitere, auf dem gleichen Prinzip basierende Pulssequenzen entwickelt [77]. Die Anwendung der PH-INEPT, PH-INEPT+, oder INEPT(+ $\pi/4$)-Pulssequenz auf die nach der Hydrierung mit Parawasserstoff in das Spektrometer eingebrachte Probe führt zu einem effektiven Transfer der Polarisation auf Heterokerne wie ^{13}C oder ^{29}Si in verschiedenen Substraten. Auf diese Weise wurden Signalverstärkungen bis zu einem Faktor von 500 erzielt. Des Weiteren konnte durch die Entwicklung der so genannten SEPP-Sequenz (Selective Excitation of Polarization using PASADENA) erreicht werden, dass die durch den Polarisationstransfer für den Heterokern detektierten Signale ausschließlich in verstärkter Absorption erscheinen [78].

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass durch einen spontanen Transfer bereits hohe Signalverstärkungen erreicht werden können, wird im Zuge dieser Arbeit auf die Anwendung bestimmter Pulssequenzen verzichtet.

Die Liste der Heterokerne, für die ein erfolgreicher PHIP-Transfer nachgewiesen werden konnte, beschränkt sich nicht nur auf ^{13}C , ^{31}P und ^{29}Si , sondern erstreckt sich auch auf ^{15}N [79] bis hin zu ^{19}F [80]. Im Hinblick auf eine Anwendung in der MRT (Kap.1) soll hier ausschließlich der PHIP-Transfer auf den ^{13}C -Kern untersucht werden.

Die Zahl der bisher dokumentierten Systeme, an denen ein Transfer der Polarisation auf ^{13}C detektiert werden konnte, ist nicht sehr hoch. Diese Systeme sind in Form der für die Hydrierreaktion eingesetzten, Edukte zur Übersicht in Abbildung 6-3 dargestellt. In den zugehörigen ^{13}C -Spektren treten jeweils die durch den ersten Hydrierschritt erzeugten Substrate als Antiphasensignale in Erscheinung. Von einer Ausnahme abgesehen (a in Abb. 6-3) wird die Polarisation in allen Fällen durch Hydrierung einer Mehrfachbindung erzeugt. Für die mit ^{13}C markierten Substrate konnten nur diese Kerne im Spektrum detektiert werden. Die gezeigte Zusammenstellung lässt vermuten, dass ein PHIP-Transfer auf ^{13}C fast ausschließlich bei der Hydrierung zu sterisch relativ rigiden Systemen wie Doppelbindungen oder einer im Ring fixierten Einfachbindung möglich ist. Die erfolgreiche Detektion von ^{13}C -Polarisation bei der Hydrierung von p-Fluor-Styren (c in Abb. 6-3) und Acrylsäure-(2-hydroxy-ethyl)-ester (e in Abb. 6-3) zeigen jedoch, dass es sich dabei nicht um das einzige strukturbedingte Kriterium für die Möglichkeit eines solchen Transfers handelt. Die relativ geringe Zahl der dokumentierten Systeme lässt also kaum systematische Aussagen über den Einfluss strukturbedingter Parameter auf den Polarisationstransfer zu. Im Zuge dieser Arbeit soll daher zunächst eine Erweiterung dieser "Strukturliste" durch den Nachweis eines PHIP-Transfers an anderen Systemen erfolgen. Mit der Kenntnis von strukturbedingten und elektronischen Einflüssen können dann Hinweise gewonnen werden, die eine Möglichkeit zur gezielten magnetischen Markierung ganz bestimmter Substrate aufzeigen könnten.

Ein weiterer, bemerkenswerter Punkt bei den hier beschriebenen Experimenten ist die ausnahmslos identische Reaktionsführung. Die eigentliche Hydrierreaktion erfolgt hier für alle PHIP-Transfer-Untersuchungen außerhalb des Magnetfeldes des Spektrometers, also unter ALTADENA-Bedingungen. Es wird davon ausgegangen, dass die starke Kopplung der beteiligten Kerne, die unter diesen Bedingungen ähnliche Präzessionsfrequenzen aufweisen, eine grundlegende Bedeutung hat. Diese Beobachtung wird unterstützt durch die Erkenntnis, dass durch Anwendung der sogenannten "field cycling" -Methode [40, 83], bei der das hydrierte System ein magnetisches Nullfeld durchläuft, deutlich gesteigerte Signalüberhöhungen erzielt werden.

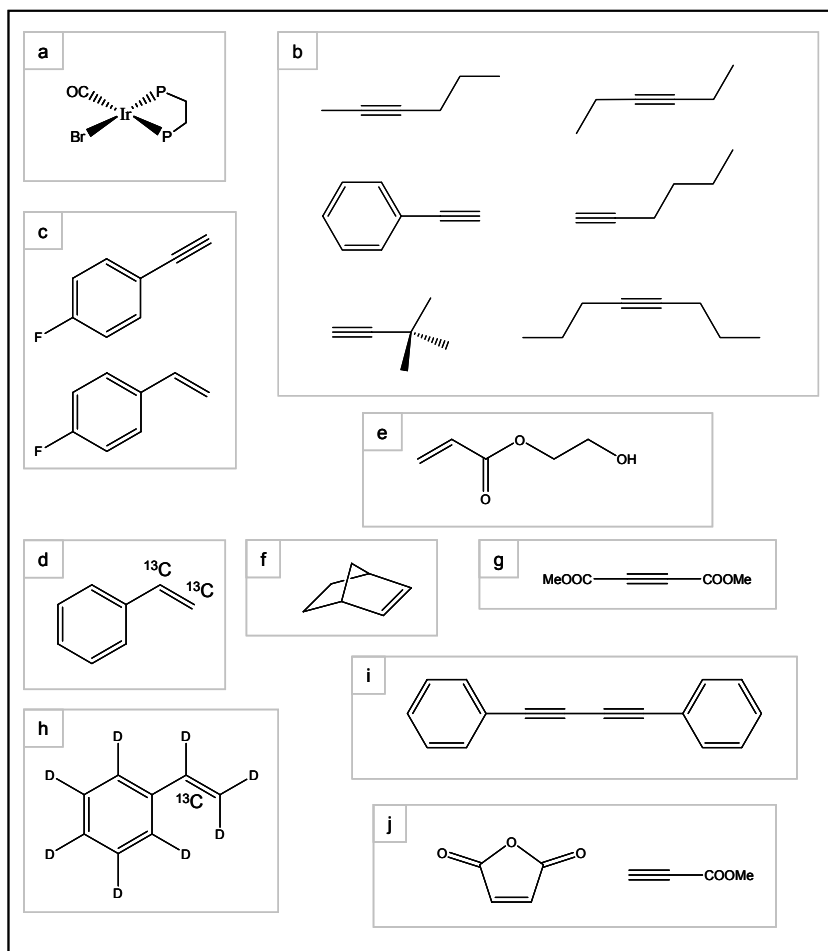


Abbildung 6-3: Übersicht der bisher erfolgreich für einen Transfer der Polarisation auf ^{13}C eingesetzten Edukte.

a: [65], b: [81], c: [80], d: [82], e: [83], f: [76], g: [39], h: [75], i: [77];
j: [84]

Es gibt bisher jedoch keinen Hinweis darauf, ob es sich bei der Hydrierung im schwachen Magnetfeld um eine grundlegende Bedingung für die Beobachtung dieses Effektes handelt, oder eine starke Kopplung der Kerne zu einem verstärkten Transfer führt. Entsprechende Experimente sollen im Rahmen dieser Arbeit einen Beitrag zu Klärung dieser Frage liefern.

7. Targetsysteme

Für eine erfolgreiche Anwendung des angestrebten Markierungsverfahrens in Form des PHIP-Transfers auf den ^{13}C -Kern in der MRT (Kap. 1) muss unter anderem die physiologische Verträglichkeit des verwendeten Substrats gewährleistet sein. Eine grundlegende Bedingung für das Auftreten des PHIP-Effektes ist der Einsatz einer hydrierbaren, ungesättigten Verbindung. Die Hydrierbarkeit allein gewährleistet jedoch noch nicht das Erscheinen des beschriebenen Polarisationsphänomens für das entsprechende Hydrierprodukt. Der Hydriermechanismus für das betrachtete System muss eine Übertragung der Parawasserstoffprotonen unter Erhaltung der Spinkorrelation ermöglichen. Dies verdeutlicht, dass die Auswahl von geeigneten Zielmolekülen in einem gewissen Maße eingeschränkt ist. Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass die erfolgreiche Generierung von ^1H -Polarisation in einem ausgesuchten Substrat noch keinen Garant für die Beobachtung eines Transfers auf den ^{13}C -Kern darstellt, was sich in der geringen Zahl der bisher markierten Systeme (Kap. 6) widerspiegelt. Mit dem Ziel, die Möglichkeit für einen PHIP-Transfer auf ^{13}C nicht nur für verträgliche, sondern womöglich für physiologisch aktive Substanzen zu untersuchen, lässt sich folgern, welche Systeme als Targetmoleküle geeignet sind.

Es ist also nahe liegend, den Fokus auf Zielmoleküle zu legen, für die durch den Einsatz in der medizinischen Therapie eine physiologische Wirksamkeit bereits nachgewiesen werden konnte. Von ganz besonderem Interesse, im Hinblick auf die Anwendung in der MRT, sind hier Verbindungen, die in der Lage sind, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Die magnetische Markierung einer solchen Substanz könnte besonders für die Hirnforschung ganz neue Untersuchungsmöglichkeiten erschließen. Hier kommen Medikamente in Frage, die zur Behandlung von Hirnerkrankungen eingesetzt werden, oder Substanzen, die im Metabolismus des Gehirns eine Rolle spielen.

7.1 Anaesthetika

In der Medizin findet eine große Zahl von Narkotika ihren Einsatz, die heute sehr effektiv, gut dosierbar und mit einem Minimum an Nebenwirkungen angewendet werden können. Nachdem man sich viele Jahrhunderte verschiedener Rauschmittel, wie Haschisch, Opium oder Alkohol bediente, steht heute eine Auswahl diverser spezifischer Narkotika zur Verfügung [85]. Man unterscheidet hier zwischen Inhalationsanaesthetika und intravenösen Narkotika. In Abbildung 7.1 sind einige Beispiele solcher Präparate dargestellt. Besonders in Anbetracht ihrer geringen Komplexität stellen die Inhalationsanaesthetika eine interessante Zielgruppe dar.

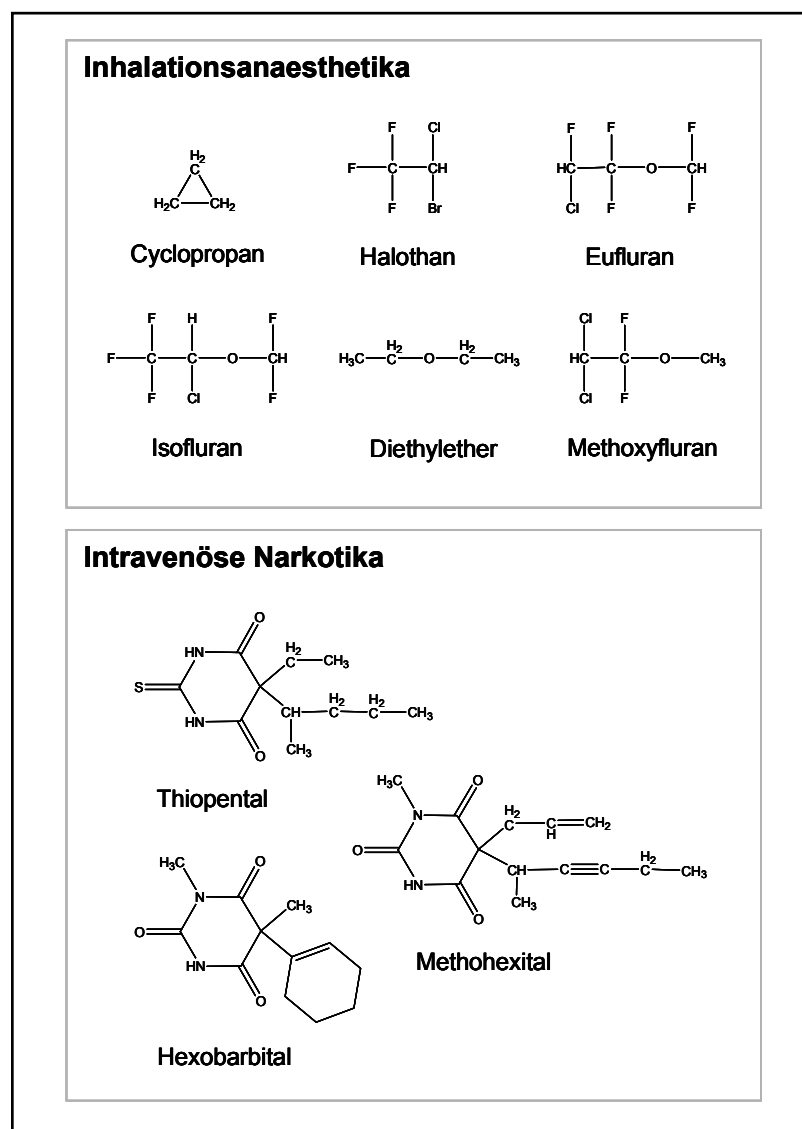


Abbildung 7.1: Beispiele verschiedener Anaesthetika

7.2 Antiepileptika

Bei der Epilepsie, oder Fallsucht, handelt es sich um eine relativ weit verbreitete hirnorganische Anfallskrankheit, an der, Berichten zufolge, bereits Julius Cäsar gelitten haben soll.

Als Epilepsien werden verschiedene relativ kurze, rasch einsetzende und chronisch wiederkehrende Krampfanfälle bezeichnet. Derartige Anfälle sind stets Ausdruck einer Funktionsstörung des Zentralnervensystems, die sich in einer gesteigerten Erregbarkeit der Neuronen im Gehirn und damit in einer Erniedrigung der so genannten Krampfschwellen bemerkbar macht. Dies führt dann zu abnormen motorischen Reaktionen und/oder Bewusstseinsstörungen.

Zur Behandlung dieser Erkrankung werden daher Substanzen eingesetzt, die durch Wirkung auf das Gehirn bzw. die Nervenzellen die Ausbreitung epileptischer Entladungen verhindern [86]. Eine Übersicht häufig verwendeter Antiepileptika ist in Abbildung 7.2 dargestellt. Dies zeigt, dass zur Überwindung der Blut-Hirn-Schranke offensichtlich eine Vielzahl verschiedener Strukturen befähigt ist. Bei den gezeigten Beispielen handelt es sich um Barbiturate, Benzodiazepine, Hydantoine, Succinimide, Oxazolidine, Carbamazepin und Valproinsäure, die sich in Größe und Aufbau zum Teil wesentlich unterscheiden. Am Beispiel des Carbamazepins lässt sich verdeutlichen, dass nicht jede Struktur als mögliches Targetmolekül in Frage kommt. Es muss zumindest eine denkbare, ungesättigte Vorstufe existieren, die sich durch Hydrierung in die angestrebte Struktur umwandeln lässt. Für dieses Beispiel kommt also eine magnetische Markierung mittels des angestrebten Verfahrens nicht in Frage. Vergleicht man die in Abbildung 7.2 dargestellten Strukturen, so fällt auf, dass der Valproinsäure aufgrund ihrer recht einfachen Struktur innerhalb der Antiepileptika eine gewisse Sonderstellung zukommt. Die Valproinsäure wird bei einer ganzen Reihe von Epilepsie-Formen mit Erfolg angewandt. Sie erhöht die zelebrale Konzentration einer inhibitorischen Überträgersubstanz, vermutlich durch Hemmung von deren Abbau.

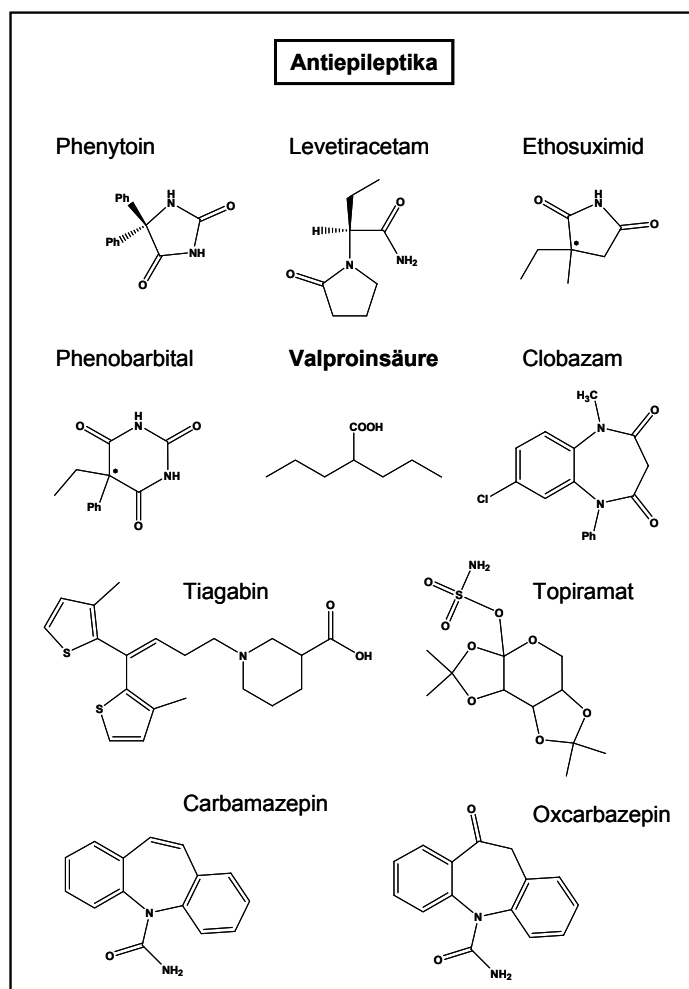


Abbildung 7.2: Übersicht verschiedener gebräuchlicher Antiepileptika

Im Plasma liegt die Valproinsäure zu ca. 95% an Eiweiße gebunden vor, was die Hydrophobie dieser Verbindung widerspiegelt und damit auch den Durchtritt durch die Blut-Hirn-Schranke ermöglicht. Nicht nur wegen des verbreiteten Einsatzes in der Therapie, sondern auch wegen der recht einfachen Struktur, die den Einsatz verschiedener Vorstufen denkbar macht, stellt die Valproinsäure ein äußerst viel versprechendes Targetmolekül dar.

7.3 Stoffwechsel-Intermediate

Wie bereits erläutert, stellen Verbindungen, die eine Rolle im Stoffwechsel des menschlichen Körpers spielen, eine weitere interessante Klasse an möglichen Zielmolekülen dar.

Der Citratzyklus (Zitronensäurezyklus) verläuft in den Mitochondrien und nimmt eine zentrale Stellung im Rahmen der aeroben Dissimilation ein. Er wird auch als Drehscheibe des Stoffwechsels bezeichnet [87]. Im Verlauf dieses Zyklus wird Acetyl-CoA, das aus dem Pyruvat- oder dem Fettsäureabbau stammt, in CO_2 überführt. Bei den an den einzelnen Teilschritten beteiligten Verbindungen handelt es sich um Derivate von Di-, oder Tricarbonsäuren mit vier bis sechs C-Atomen. Als Beispiel für ein geeignetes Targetmolekül soll hier das Succinat (Abb. 7.3) genannt werden, das als Intermediat an diesem Zyklus beteiligt ist.

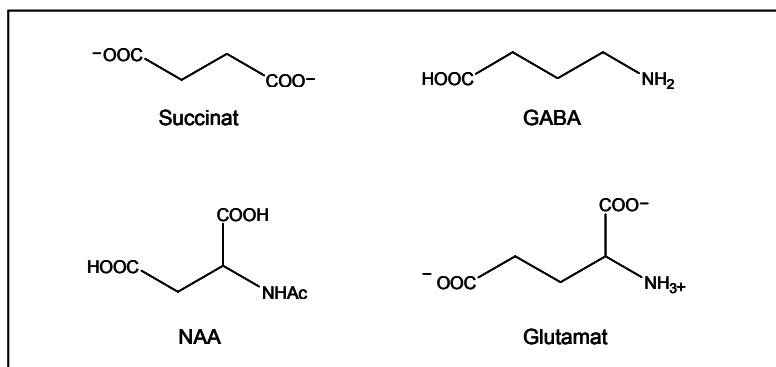


Abbildung 7.3: *Beispiele einiger Stoffwechsel-Intermediate*

Von besonderem Interesse sind natürlich auch Verbindungen, die am Stoffwechsel des Nervensystems beteiligt sind. Das Gehirn hat einen regen Aminosäure-Stoffwechsel. Die Aminosäuren-Konzentration ist um ein Vielfaches höher als im Blutplasma. An diesem Stoffwechsel sind neben Glutamin, Glutamat und Aspartat auch N-Acetyl-asparaginsäure (NAA), γ -Aminobuttersäure (GABA) und Cystathionin beteiligt, von denen drei Beispiele in Abbildung 7.3 dargestellt sind.

7.4 L-DOPA

In der Liste von Zielmolekülen soll an dieser Stelle noch eine Verbindung erwähnt werden, die seit vielen Jahren zur Behandlung der Parkinson-Krankheit eingesetzt wird. Auch dieses Substrat ist, gemäß seines Einsatzes zur Behandlung einer Hirnerkrankung, zur Passage der Blut-Hirnschranke befähigt. Diese Substanz wird industriell über den Monsanto-Prozess gewonnen [88], der in Abbildung 7.4 schematisch dargestellt ist.

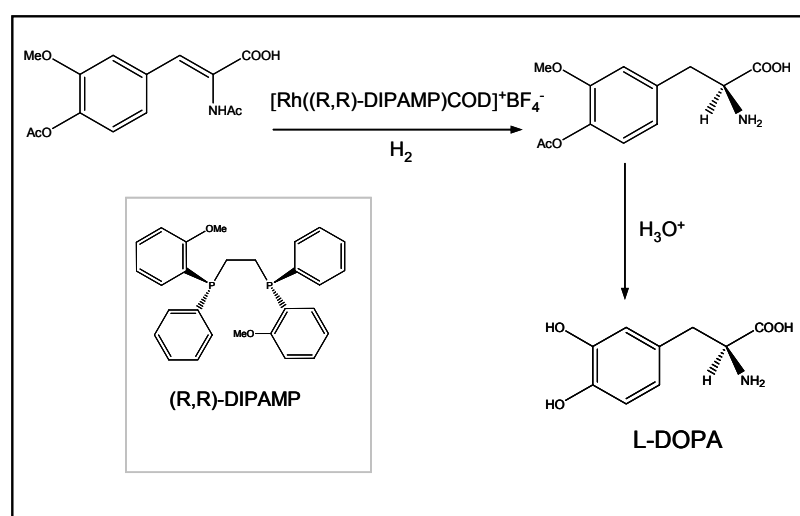


Abbildung 7.4: *Monsanto-Prozess zur Synthese von L-DOPA durch asymmetrische, katalytische Hydrierung*

Der Schlüsselschritt dieser Synthese besteht aus der katalytischen Hydrierung eines α -Acetamidocinnamssäurederivates mittels eines Rhodiumkatalysators, der einen asymmetrischen Phosphinliganden trägt. Die rhodiumkatalysierte Hydrierung von α -Acetamidocinnamssäurederivaten ist eine Reaktion, die mittels der PHIP-Methode bereits gut untersucht worden ist [89]. Es hat sich gezeigt, dass bei der Übertragung von Parawasserstoff auf solche Substrate im NMR-Spektrum eine gute Signalsteigerung für die entsprechenden Protonen erzielt werden kann. Es liegt daher nahe, die Möglichkeit eines Polarisationstransfers auf den ^{13}C -Kern an solchen strukturverwandten Systemen zu untersuchen.

7.5 Profene

Die Profene, wie zum Beispiel das Ibuprofen oder das Naproxen, werden vielfach in der Schmerztherapie eingesetzt. Diese 2-Phenylpropionsäurederivate sind auch als nichtsteroidale Entzündungshemmer von pharmakologischem Interesse [90]. Die entsprechenden Strukturen zweier Beispielsubstanzen sind in Abbildung 7.5 dargestellt.

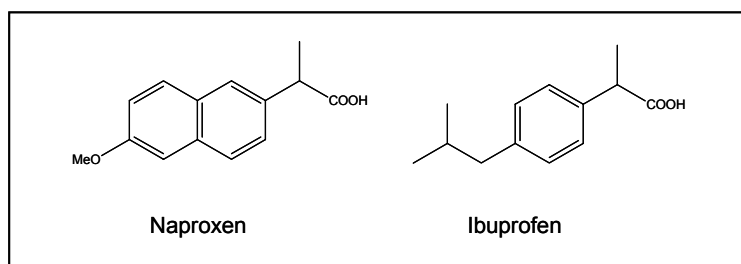


Abbildung 7.5: *Strukturen zweier Profene*

Die Hydrierung der α,β -ungesättigten Vorstufen dieser Verbindungen könnte die magnetische Markierung solcher und ähnlicher Substanzen ermöglichen.

8. Strukturuntersuchungen

8.1 Polarisationstransfer bei der Hydrierung von Dreifachbindungssystemen

Die Notwendigkeit der Erfassung verschiedener strukturbedingter Parameter, die einen erfolgreichen PHIP-Transfer auf den ^{13}C -Kern ermöglichen, wurde in den vorangegangenen Kapiteln eingehend erläutert. Die in diesem Kapitel dargelegten Experimente wurden mit dem Ziel durchgeführt, die Liste der Substrate, an denen ein solcher Transfer beobachtet werden kann (Kap. 6), durch den Nachweis dieses Effekts an anderen Systemen zu erweitern.

Da sich in der Vergangenheit besonders symmetrische Dreifachbindungssysteme für Transferexperimente bewährt haben, wurden zunächst strukturverwandte Substrate für die Untersuchungen eingesetzt. Es muss gewährleistet sein, dass die für den Transfer notwendige Polarisation durch die Übertragung des Parawasserstoffs unter Erhaltung der Spinkorrelation durch die entsprechende Reaktion erzeugt werden kann. Daher wird für jedes Experiment zunächst das Auftreten des eigentlichen PHIP-Effekts durch Detektion der charakteristischen Signale im ^1H -Kanal nachgewiesen. Anschließend wird dasselbe Substrat unter gleichen Bedingungen weiter umgesetzt und die resultierenden Signale abwechselnd auf dem ^1H -Kanal und auf dem ^{13}C -Kanal durch Anwendung eines 45° bzw. 90° -Pulses beobachtet. Man erhält so für jedes System eine Messreihe von Spektren, die die erhaltenen Signale nach verschiedenen Hydrierzeiten wiedergeben. Im Hinblick auf die Strukturuntersuchungen soll ein möglicher Transfer zunächst rein qualitativ nachgewiesen werden. Aus jeder der Messreihen wurde daher im Folgenden jeweils das intensitätsstärkste Spektrum ausgewählt. Auf eine Interpretation der Signalmuster im Hinblick auf die Phasenlage und die Intensitätsverteilung soll an dieser Stelle noch verzichtet werden³. Alle in diesem Kapitel vorgestellten Experimente wurden unter ALTADENA-Bedingungen bei Raumtemperatur durchgeführt.

³ Eine Analyse der ^{13}C -Polarisationssignalmuster wird für ein anschauliches System in Kapitel 12 vorgestellt.

Polarisationstransfer bei der Hydrierung von Diphenylacetylen

Zur Reaktion werden 78.5×10^{-3} mmol Diphenylacetylen und 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Das nach einer Hydrierzeit von ca. 60 Sekunden erhaltene ^{13}C -Spektrum ist in Abbildung 8.1-1 dargestellt.

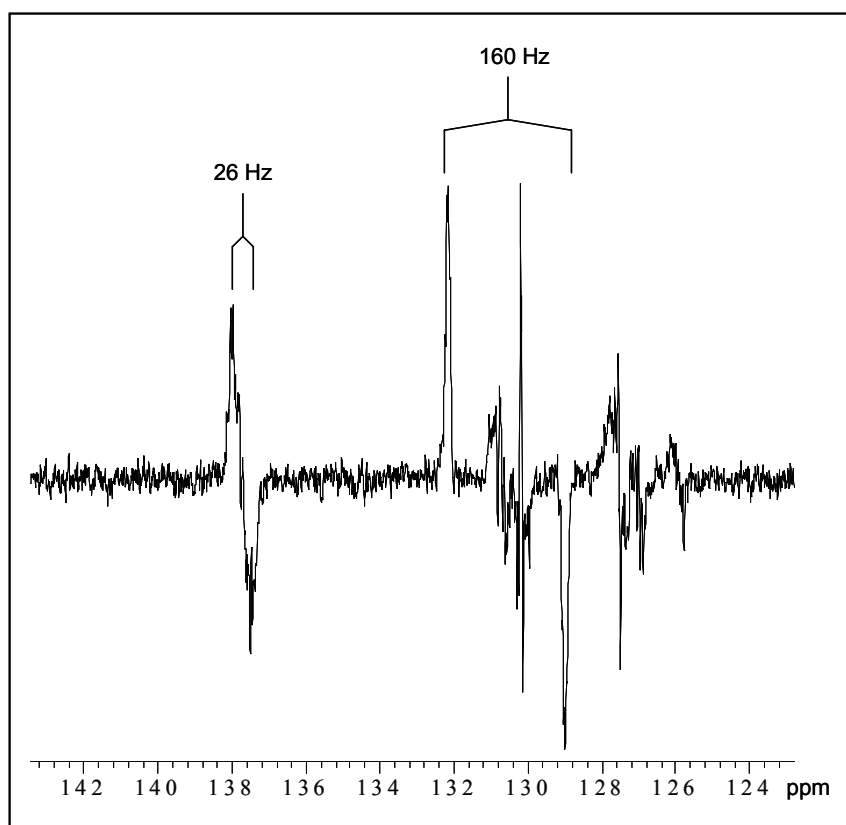


Abbildung 8.1-1: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von Diphenylacetylen

Die Signale erscheinen in einem für aromatische und olefinische Kohlenstoffkerne charakteristischen Verschiebungsbereich von 124-140 ppm. Die mit nur einem Detektionspuls aufgenommenen, deutlichen Antiphasensignale zeigen den gelungenen Polarisationstransfer für dieses System an. Das detektierte Hydrierprodukt cis-Stilben enthält fünf magnetisch inäquivalente Gruppen von Kohlenstoffkernen. Aufgrund der Überlagerung verschiedener Signalgruppen ist eine genaue Zuordnung aller einzelnen Signale für dieses System jedoch nicht durchführbar. Gut erkennbar in diesem Spektrum sind zwei Signalgruppen bei einer Verschiebung von 137.8 und 130.6 ppm.

Die Signalgruppe bei 130.6 ppm befindet sich in einem olefinischen C-Atomen entsprechenden Verschiebungsbereich und kann durch die $^1J_{CH}$ -Kopplung von 160 Hz den direkt mit dem übertragenen Parawasserstoff verknüpften Kernen zugeordnet werden. Die zweite Signalgruppe bei 137.8 ppm entspricht den quartären C-Atomen im Phenylring, die eine kleinere $^3J_{CH}$ -Kopplung von 26 Hz zu einem der olefinischen Protonen aufweisen. Vergleicht man die Intensität der beschriebenen Signalgruppen, so fällt auf, dass diese in einer ähnlichen Größenordnung liegen. Setzt man die relativen Intensitäten beider Gruppen in Beziehung, ergibt sich ein Faktor von 1.7, der die im Vergleich zu den Signalen der quartären C-Atome leicht erhöhte Intensität der Signale der olefinischen C-Atome beschreibt. Die direkt an den übertragenen Parawasserstoff gebundenen C-Atome partizipieren also offensichtlich in größtem Maße an der erzeugten Polarisierung. Wie in Kapitel 6 erläutert wurde, können für den Polarisierungstransfer verschiedene Mechanismen in Frage kommen. Ein effizienter Transfer auf die direkt verknüpften C-Atome lässt sich sowohl unter Berücksichtigung einer dipolaren Wechselwirkung, als auch über die starke Kopplung verstehen. Die dipolaren Wechselwirkungen sind jedoch stark abstandsabhängig und sollten sich daher in erster Linie auf die räumlich nächstliegenden Kerne auswirken. Die intensitätsstarken Signale der quartären C-Atome zeigen, dass hier noch ein weiterer Faktor berücksichtigt werden muss. Da nicht nur der Abstand, sondern auch die Kopplung zu den übertragenen Protonen deutlich von den entsprechenden Daten der olefinischen C-Atome abweicht, kann eine Klärung der vergleichbaren Signalintensitäten nur über das unterschiedliche Relaxationsverhalten erfolgen. Grundsätzlich sind die Relaxationszeiten für Signale von ^{13}C -Kernen umso geringer, je mehr Protonen mit diesen verknüpft sind. Als Beispiel soll hier ein System herangezogen werden, das dem Stilben strukturell sehr ähnlich ist. Die Relaxationszeit des ^{13}C -Kerns der olefinischen CH-Gruppierung beträgt im Styren 17 Sekunden [91]. Die Relaxationszeit der Signale des quartären C-Atoms liegt bei 75 Sekunden. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass zwischen der Hydrierreaktion außerhalb des Spektrometers und der Detektion der Signale unter ALTADENA-Bedingungen ein Zeitraum von mindestens 15 Sekunden liegt, lässt sich schließen, dass die Signale der olefinischen C-Atome zum Zeitpunkt ihrer Entstehung eine deutlich höhere Intensität aufgewiesen haben müssen. Es wird also deutlich, dass der Relaxation im Hinblick auf diese Experimente ein großer Stellenwert zukommt und dass Transferexperimente an Systemen, die quartäre C-Atome enthalten, durchaus viel versprechend sind.

Im gezeigten Spektrum des polarisierten cis-Stilbens sind außer den zwei diskutierten Signalgruppen noch weitere Signale der aromatischen Kohlenstoffkerne erkennbar. Die Relaxationszeiten von aromatischen und olefinischen C-Atomen liegen in derselben Größenordnung. Für einen Vergleich der Signalintensitäten mit den olefinischen Gruppen können Relaxationsphänomene hier außer Acht gelassen werden. Die Tatsache, dass für die aromatischen C-Atome hier deutliche Signale detektiert werden können, zeigt, dass ein Polarisationstransfermechanismus, der allein auf dipolarer Wechselwirkung beruht, für dieses System keinen hinreichenden Erklärungsansatz darstellt. Die Kohlenstoffkerne im Phenylring sind von den polarisierten Protonen räumlich weit entfernt. Die Folgerung ist daher nahe liegend, dass die Polarisation im untersuchten System vorwiegend durch skalare Kopplungen übertragen wird.

Polarisationstransfer bei der Hydrierung von 2-Butin-1,4-diol-diacetat

Am Beispiel der Hydrierung von Diphenylacetylen hat sich gezeigt, dass die Polarisation bezüglich der ^{13}C -Kerne auf das gesamte System verteilt wird. Diese Beobachtung konnte bereits bei der Hydrierung einfacher Alkinverbindungen gemacht werden [81]. Es ist daher nahe liegend, das Transferverhalten zunächst an einem weiteren symmetrischen System zu untersuchen, das neben quartären C-Atomen einen verbrückenden Heterokern enthält. Zur Reaktion wurden 81×10^{-3} mmol 2-Butin-1,4-diol-diacetat und 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Das entsprechende ^{13}C -Spektrum, das nach einer Hydrierzeit von ca. 40 Sekunden erhalten wurde, ist mit der Struktur des Hydrierproduktes in Abbildung 8.1-2 dargestellt.

Das intensitätsstärkste Signal bei 128.4 ppm stammt erwartungsgemäß von den direkt mit dem übertragenen Parawasserstoff verknüpften, olefinischen Kohlenstoffkernen. Das Signal ist durch die direkte $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung mit 161 Hz in Antiphase aufgespalten.

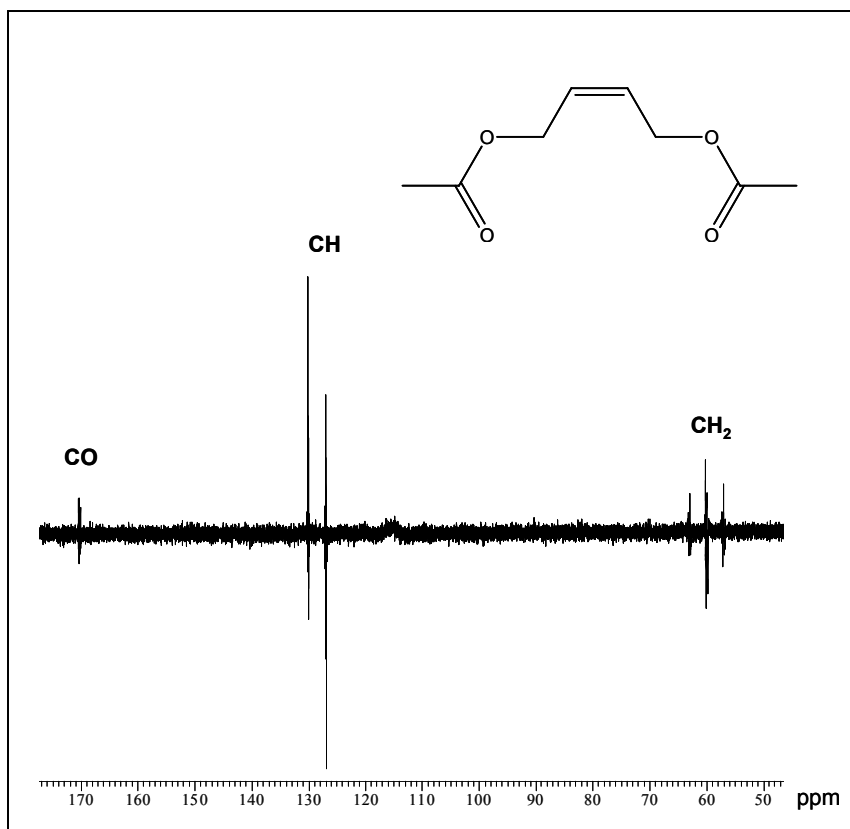


Abbildung 8.1-2: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von 2-Butin-1,4-diol-diacetat

Auch die benachbarte CH₂-Gruppe partizipiert an der erzeugten Polarisierung, was sich in einem entsprechenden Triplett bei 59.8 ppm mit einer in Phase-Kopplungskonstanten von $^1J_{\text{CH}} = 147 \text{ Hz}$ widerspiegelt. Besonders interessant ist hier das Auftreten des Signals der Carbonylfunktion bei 170.2 ppm. Dies zeigt, dass die Polarisierung sogar über einen Heterokern wie Sauerstoff hinweg auf ein quartäres C-Atom übertragen werden kann. Durch dieses Experiment wird die Möglichkeit aufgezeigt, die Polarisierung auf Säuregruppen durch vorherige Veresterung mit einem ungesättigten Alkohol zu übertragen. Dies kann sich als vorteilhaft erweisen, wenn das ausgesuchte Targetsystem über eine Carboxylfunktion verfügt, aber keine zugängliche ungesättigte Vorstufe dieser Verbindung existiert. Die Tatsache, dass die an die Carboxylgruppe gebundene, endständige Methylgruppe im Spektrum nicht detektierbar ist, lässt sich sowohl durch den großen räumlichen Abstand zum Hydrierzentrum, als auch durch eine unzureichende Kopplung zu den übertragenen Protonen bzw. vergleichbar kurze Relaxationszeiten erklären.

Polarisationstransfer bei der Hydrierung von 3-Phenyl-Propiolsäureethylester

An den bisher geschilderten Experimenten lässt sich gut erkennen, dass der Polarisationstransfer bei der Hydrierung symmetrisch substituierter Dreifachbindungen gut detektierbar ist. Dies konnte in der Vergangenheit schon für den Acetylendicarbonsäuredimethylester und zwei mit reinen Alkylgruppen substituierte Alkine nachgewiesen werden (Kap. 6). Ein erfolgreicher Transfer an unsymmetrisch substituierten Alkinen ohne die Anwendung spezieller Pulssequenzen konnte bisher für drei alkylsubstituierte Systeme sowie bei der Hydrierung von Phenylacetylen und Propiolsäureethylester gezeigt werden [81,84]. Die Untersuchung eines Systems, das die Substituenten der letztgenannten Verbindungen kombiniert, ist daher nahe liegend.

Zur Reaktion wurden 80×10^{-3} mmol Phenylpropiolsäureethylester und 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Das aus der Messreihe erhaltene ^{13}C -Spektrum ist in Abbildung 8.1-3 mit der Struktur des Hydrierproduktes dargestellt. An den erhaltenen Signalen ist deutlich erkennbar, dass der Polarisationstransfer auch an diesem System gut gelingt.

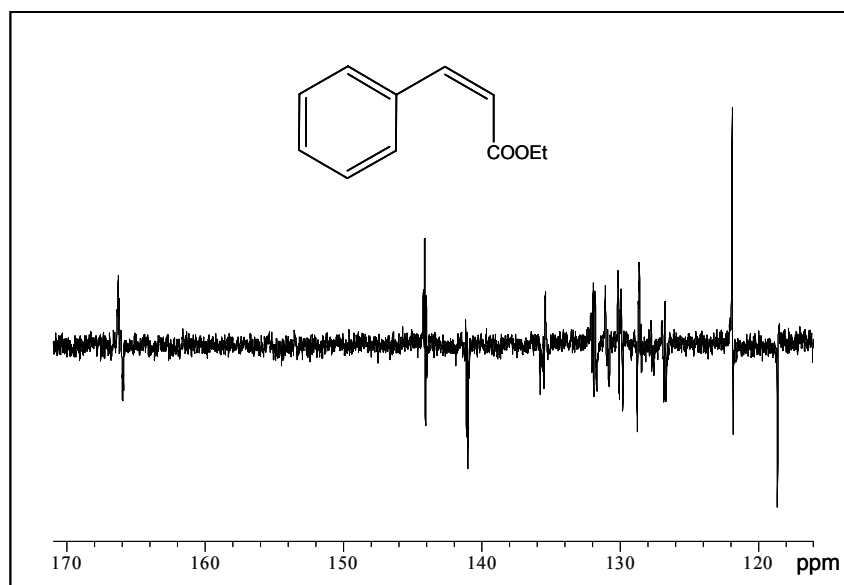


Abbildung 8.1-3: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von Phenylpropiolsäureethylester

Bei dem auf diese Weise magnetisch markierten Hydrierprodukt handelt es sich um einen Zimtsäureethylester. Auch dieses Spektrum wird von den Signalen der am Hydrierzentrum gelegenen olefinischen ^{13}C -Kerne dominiert. Das Signal bei einer Verschiebung von 142.5 ppm kann dem der Phenylgruppe benachbarten C-Atom zugeordnet werden.

Dieses weist eine $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplung von 157 Hz auf, die in Antiphase erscheint. Auch die $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplung zu den ortho-ständigen Phenylprotonen von 5 Hz ist noch erkennbar. Das der Carboxylfunktion benachbarte C-Atom zeigt ein mit 165 Hz aufgespaltenes Antiphasendublett bei einer Verschiebung von 120.3 ppm. Auch das Signal der Carbonylgruppe bei 166.2 ppm ist in diesem Spektrum gut sichtbar. Die einzelnen Kohlenstoffkerne des Phenylringes sind aufgrund der Signalüberlagerungen zwischen 126 ppm und 136 ppm im 50 MHz-Spektrum nur schwer unterscheidbar. Auch das Signal des quartären ^{13}C -Kerns fällt im Gegensatz zum analogen Experiment mit Diphenylacetylen nicht durch eine höhere Intensität auf. Vermutlich ist die Differenz der Relaxationszeiten in diesem System nicht so ausgeprägt.

Polarisationstransfer bei der Hydrierung von 3-Phenyl-2-propinol

Als weiteres Beispielsystem zur Untersuchung des Transfers bei der Hydrierung unsymmetrischer Dreifachbindungssysteme soll hier eine Verbindung mit einer Hydroxylgruppe vorgestellt werden. 3-Phenyl-2-propin-1-ol unterscheidet sich vom vorher besprochenen System lediglich durch das Fehlen der Estergruppe. Zur Reaktion wurden 100×10^{-3} mmol der Verbindung mit 5.5 mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt.

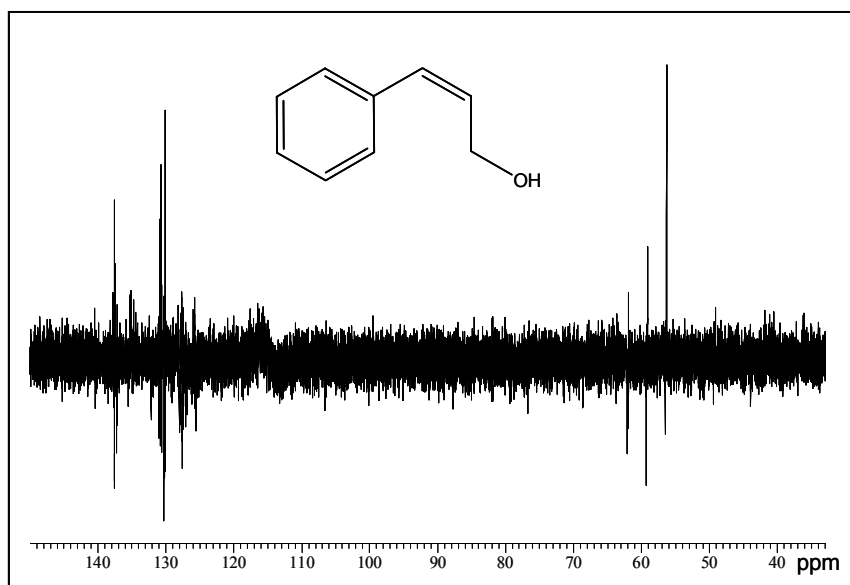


Abbildung 8.1-4: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von 3-Phenyl-2-propinol

Wie aus dem ^{13}C -Spektrum in Abbildung 8.1-4 ersichtlich wird, führt der Polarisationstransfer bei diesem System zu keinen ausgeprägten Signalintensitäten. Dies kann, abgesehen von einer möglicherweise geringen Umsatzrate, an einem ungünstigen Verhältnis der Kopplungskonstanten liegen. Dieser Sachverhalt soll in einem der folgenden Kapitel durch den Vergleich mit anderen Systemen genauer untersucht werden. Abgesehen von den stark überlagerten Signalen der olefinischen und aromatischen ^{13}C -Kerne zwischen 125 und 139 ppm ist ein gut aufgelöstes Triplett der Methylengruppe bei einer Verschiebung von 59 ppm mit einer $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung von 141.6 Hz zu erkennen. Trotz der größeren Entfernung dieser Gruppe vom Hydrierzentrum im Vergleich zu den olefinischen ^{13}C -Kernen erscheinen die Signale in vergleichbarer Intensität. Da die Relaxationszeiten für Methylengruppen erfahrungsgemäß nicht sehr hoch sind, kann die relativ starke Intensität dieser Signale nur durch eine effektive Kopplung zu den übertragenen Protonen zustande kommen. Grundsätzlich hat ein elektronegativer Substituent am koppelnden C-Kern einen positiven Einfluss auf die Größe der $^1\text{J}_{\text{CH}}$ - und $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen. Unter der Voraussetzung, dass diese skalaren Kopplungen einen Einfluss auf die Effektivität des Polarisationstransfers haben, kann davon ausgegangen werden, dass Systeme mit Hydroxylfunktionen, Ethergruppen oder Carboxylfunktionen für diese Experimente besonders geeignet sind. Diese Annahme soll durch weitere Untersuchungen bestätigt werden.

Polarisationstransfer durch Hydrierung von Diphenylbutadiin

Die Anwendung von INEPT-analogen Pulssequenzen zum Transfer der Polarisation hat sich für dieses System bereits als erfolgreich erwiesen [77]. Es ist daher nahe liegend, die Möglichkeit eines direkten Transfers durch Anwendung eines einfachen 90° -Pulses an diesem unsymmetrisch substituierten System zu untersuchen.

Zur Reaktion wurden 69×10^{-3} mmol Diphenylbutadiin mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Das nach ca. 50 Sekunden Hydrierzeit erhaltene ^{13}C -Spektrum ist mit der Struktur des Hydrierproduktes in Abbildung 8.1-5 wiedergegeben. Es ist deutlich zu erkennen, dass der Transfer der Polarisation auch ohne die Anwendung spezieller Pulssequenzen gut gelingt. Die Vielzahl der erhaltenen Signale deutet bereits darauf hin, dass die Polarisation auf das gesamte Molekül verteilt wird. Auch im analogen, von Haacke *et al.* dokumentierten Experiment, gelang die Detektion aller im Molekül enthaltener ^{13}C -Kerne.

Eine dem Transfermechanismus zugrunde liegende dipolare Wechselwirkung kann damit auch für dieses System als nicht hinreichend gelten, da die Abstände zum übertragenen Parawasserstoff zum Teil erheblich von den für NOE-Effekte maßgeblichen abweichen.

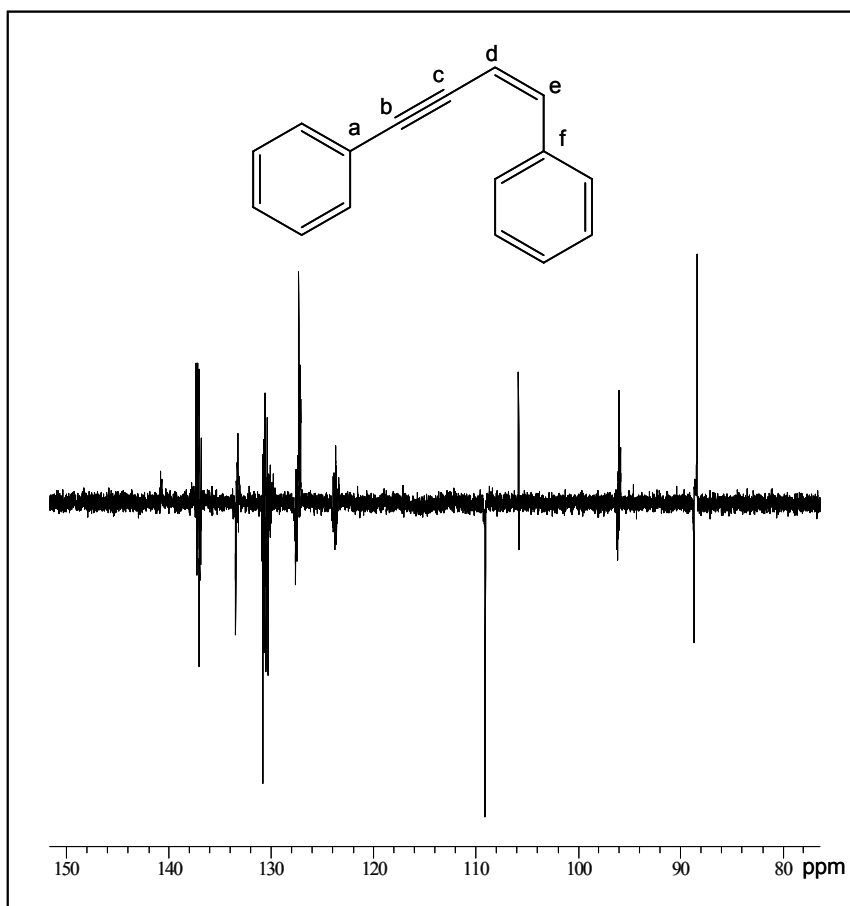


Abbildung 8.1-5: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von Diphenylbutadiin

Die einzelnen C-Atome, die im Folgenden besprochen werden sollen, sind in der Abbildung 8.1-5 mit den Buchstaben a-f gekennzeichnet. Das Signal mit der geringsten Verschiebung bei 88.4 ppm kann dem C-Atom (c) zugeordnet werden. Die $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplung zu dem an das C-Atom (e) gebundenen, ursprünglichen Parawasserstoffproton führt zu einer Antiphasenaufspaltung mit 15.5 Hz. Auch hier führt die effektive Kopplung an das Hydrierzentrum offensichtlich zu einem intensiven Transfer. Das nächstliegende Signal bei einer Verschiebung von 95.9 ppm entspricht Kern (b). Dieser Kern sollte durch eine ähnlich effektive $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplung zu dem an Kern (d) gebundenen ursprünglichen zweiten Parawasserstoffproton, die sich in einer Antiphasenaufspaltung von 10 Hz bemerkbar macht, in analogem Maße wie Kern (c) an der Polarisierung partizipieren.

Berücksichtigt man die Tatsache, dass das entsprechende Signal durch zwei weitere $^3J_{CH}$ -Kopplungen zu den ortho-ständigen Phenylprotonen mit 5.3 Hz aufgespalten ist, kann den Signalen für Kern (b) und (c) tatsächlich eine ähnliche Intensität zugeschrieben werden. Die intensitätsstärksten Signale werden in Analogie zu den bisherigen Experimenten für die am Hydrierzentrum befindlichen Kerne erwartet. Das ausgesprochen intensive Signal bei einer Verschiebung von 107.3 ppm kann C-Atom (d) zugeordnet werden, das mit einer $^1J_{CH}$ -Kopplung von 164.4 Hz zu einem der übertragenen Parawasserstoffkerne aufspaltet. Das Signal des quartären C-Atoms (a) bei einer Verschiebung von 123.6 ppm ist trotz der großen Entfernung zum Hydrierzentrum noch sehr gut sichtbar. Ganz besonders kann das zweite quartäre C-Atom, dessen Signal bei 136.9 ppm erscheint, aufgrund der starken Kopplung zu den übertragenen Protonen und einer langen Relaxationszeit in starkem Maße von der Polarisierung profitieren. Die starke Überlagerung der verbleibenden Signale im aromatischen Verschiebungsbereich gestattet keine weitere Zuordnung. Lediglich das Antiphasensignal bei 128.9 ppm kann wegen der starken Überhöhung der zweiten olefinischen CH-Gruppe (e) zugeordnet werden. Auch dieses Experiment bestätigt die positive Auswirkung langer Relaxationszeiten und effektiver Kopplungen auf den Polarisierungstransfer.

Einfluss der Relaxation bei der Hydrierung von Acetylendicarbonsäuredimethylester

In den vorangegangenen Experimenten hat sich abgezeichnet, dass den Relaxationszeiten bei der Detektion der ^{13}C -Polarisationssignale eine wesentliche Bedeutung zukommt. Da die transferierte Polarisierung offensichtlich über das gesamte Molekül verteilt wird, kann ein dipolarer Transfermechanismus über den NOE als alleinige Ursache für das Auftreten des untersuchten Phänomens ausgeschlossen werden. Damit muss davon ausgegangen werden, dass ein Transfer der Polarisierung in erster Linie durch die skalaren Kopplungen ermöglicht wird. Bei der Hydrierung von Acetylendicarbonsäuredimethylester, der hier als Beispiel dient, sollte demzufolge ein hohes Maß an Polarisierung für die direkt an den übertragenen Parawasserstoff gebundenen, olefinischen ^{13}C -Kerne detektiert werden können. In dem für die Hydrierung dieses Substrats dokumentierten Spektrum [39] zeigen diese Signale jedoch nur einen Bruchteil der für die Carbonylgruppe detektierten Signalintensität. In Anbetracht der langen Relaxationszeit, die für diese Gruppe erwartet werden kann, ist dies auch durchaus ein logisches Ergebnis.

Um zu beweisen, dass tatsächlich die Relaxation für diese erheblichen Unterschiede der Signalintensitäten verantwortlich ist, wurde das gleiche Experiment mit unterschiedlichen Verzögerungszeiten zwischen dem Beginn der Hydrierung und der eigentlichen Detektion der Signale durchgeführt. Zur Reaktion wurden, wie im Referenzexperiment, 50 μl Acetylendicarbonsäuredimethylester und 10 mg des Rhodiumkatalysators in 800 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Abbildung 8.1-6 zeigt zwei der entsprechenden ^{13}C -PHIP-Spektren im Vergleich, von denen eines unmittelbar nach der Hydrierung a) und das andere mit einer zeitlichen Verzögerung von 10 Sekunden b) detektiert wurde.

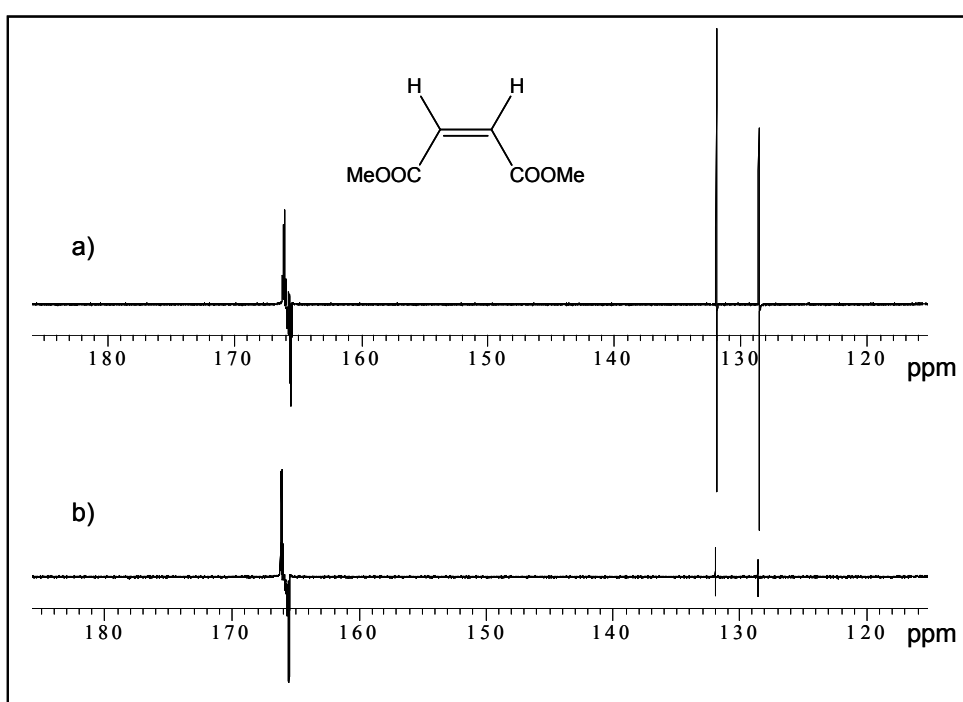


Abbildung 8.1-6: ^{13}C -PHIP-Spektren der Hydrierung von Acetylendicarbonsäuredimethylester:
a) unmittelbar nach der Hydrierung
b) mit 10 Sekunden Verzögerung

Diese Spektren zeigen anschaulich, dass bei genügend schneller Detektion tatsächlich ein ausgesprochen intensives Polarisationsignal für die olefinischen ^{13}C -Atome des Produktsystems, die eine starke Kopplung zu den übertragenen Protonen aufweisen, registriert werden kann. Die Kopplungskonstanten betragen 168.5 Hz für die $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplung und -2.5 Hz für die $^2J_{\text{CH}}$ -Kopplung.

Bereits nach einer Verzögerungszeit von nur 10 Sekunden ist dieses Signal bei einer Verschiebung von 130.2 ppm deutlich abgeschwächt. Die nur wenig veränderte Intensität des Signals der Carbonylgruppe bei einer Verschiebung von 165.7 ppm beweist den starken Einfluss des Relaxationsverhaltens auf die im Experiment registrierten Polarisations-signale.

8.2 Polarisations-transfer bei der Hydrierung von Doppelbindungs-systemen

Ein Polarisations-transfer bei der Hydrierung zu gesättigten Einfachbindungssystemen konnte bisher nur in wenigen Fällen beobachtet werden (Kap. 7). Bei den Hydrierprodukten handelt es sich um sterisch rigide Ringsysteme oder Derivate des Ethylbenzens. Auch bei der Hydrierung von Acrylsäureestern konnte ein Transfer der Polarisierung auf die ^{13}C -Kerne des entstandenen Propionsäureesters nachgewiesen werden [83, 84]. Da das Experiment für den Acrylsäureethylester bzw. die zugehörigen Spektren bisher nicht dokumentiert wurden, soll dieses hier zunächst nachvollzogen werden. Zur Reaktion wurden 184×10^{-3} mmol Acrylsäureethylester mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. In Abbildung 8.2-1 ist zunächst eines der aus der Messreihe erhaltenen Protonenspektren mit der Struktur des detektierten Propionsäureesters und der getroffenen Zuordnung dargestellt.

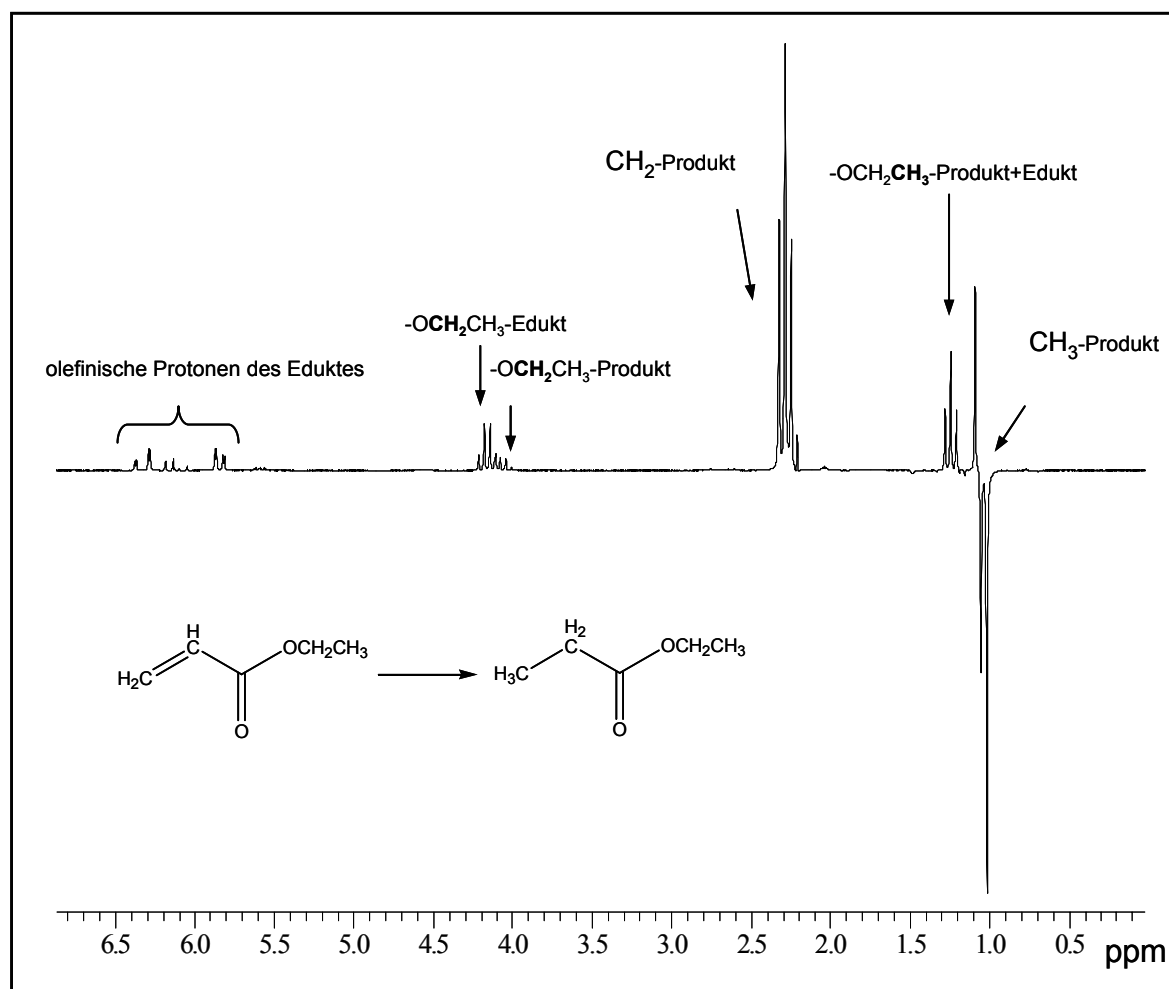


Abbildung 8.2-1: ^1H -Spektrum der Hydrierung von Acrylsäureethylester

Die intensitätsstarken Polarisationsignale bei einer Verschiebung von 1.05 und 2.28 ppm zeigen nach einer Hydrierzeit von ca. 20 Sekunden eine gute Umsetzung des verwendeten Substrates an. In diesem Spektrum kann eine vom reinen ALTADENA-Muster abweichende Signalabfolge registriert werden, die durch eine Überlagerung entsprechender PASADENA-Anteile generiert wird. Ein ähnliches Verhalten kann auch für Systeme beobachtet werden, bei denen ein Transfer der Polarisation auf den ^{13}C -Kern im Anschluss an die Hydrierung nicht nachgewiesen werden kann (Kap. 8.4). Das unmittelbar nach dieser Aufnahme registrierte ^{13}C -Spektrum in Abbildung 8.2-2 zeigt jedoch, dass der Polarisationstransfer auf die magnetisch aktiven Kohlenstoffkerne des Hydrierproduktes ausgesprochen effektiv verläuft.

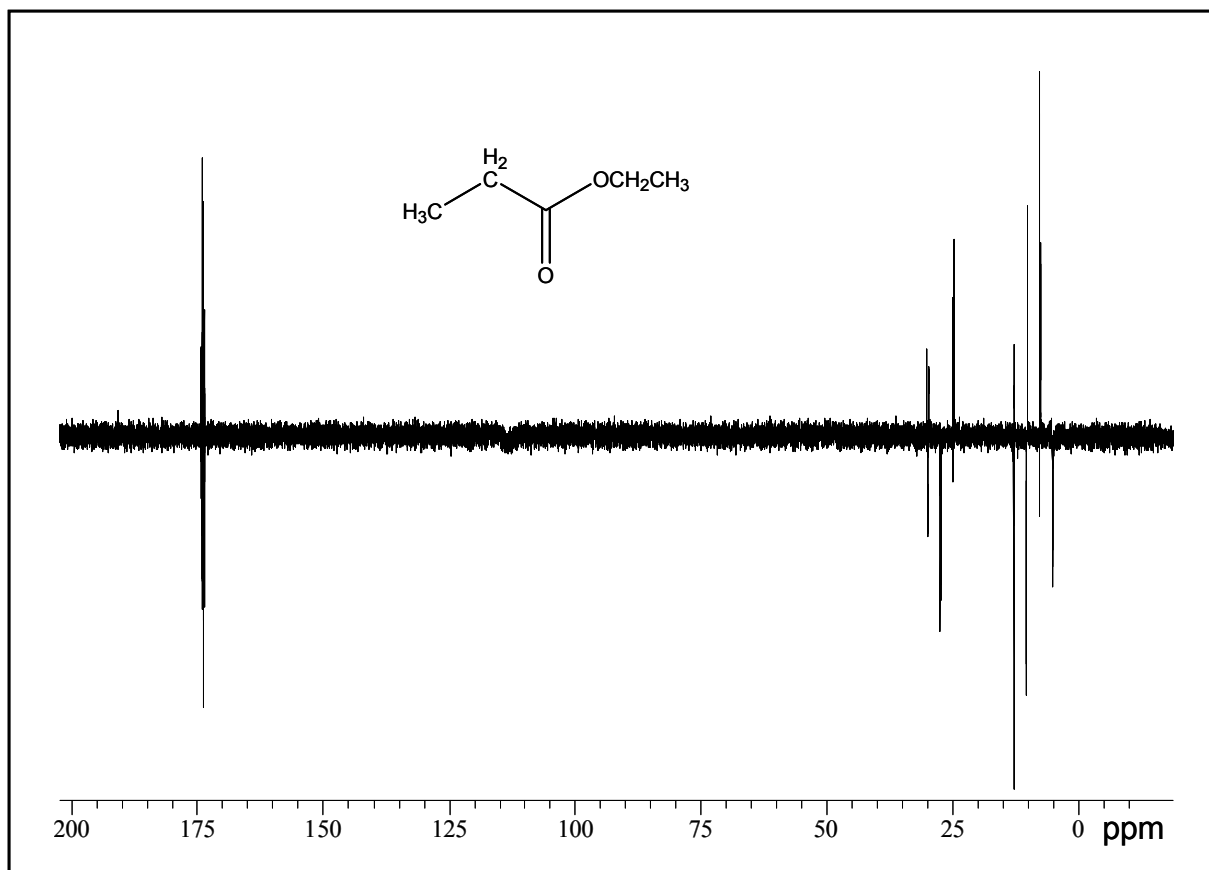


Abbildung 8.2-2: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von Acrylsäureethylester

Dies zeigt, dass die Übertragung der Parawasserstoffkerne auf ein schwach gekoppeltes AX-Spinsystem, was sich in der Phasenlage der erhaltenen Signale widerspiegelt, kein Ausschlusskriterium für eine Beobachtung des Polarisationstransfers darstellt. In Kapitel 9 soll der Einfluss dieser Kopplung auf den Transfer für dieses System noch genauer untersucht werden.

Im erhaltenen ^{13}C -Spektrum des Propionsäureesters sind intensive Signale für drei verschiedene Gruppierungen sichtbar. Die direkt mit den übertragenen Protonen verknüpften ^{13}C -Kerne zeigen intensive Antiphasensignale bei einer Verschiebung von 27.3 ppm (CH_2) und 8.9 ppm (CH_3). Die entsprechenden $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen betragen 127 Hz für die CH_2 - und 127.4 Hz für die CH_3 -Gruppe. Ein besonders intensives Signal kann auch für die gekoppelte Carbonylfunktion bei einer Verschiebung von 173.9 ppm beobachtet werden. Auch hier erweist sich die, für Carbonylfunktionen typische, lange Relaxationszeit als vorteilhaft.

Anhand der bisher vorgestellten Ergebnisse lässt sich vermuten, dass die Mitwirkung eines elektronenziehenden Substituenten im betreffenden Substrat einen positiven Einfluss auf den Transfer der bei der Hydrierung generierten Polarisierung hat.

Zum Vergleich soll daher an dieser Stelle ein dem Acrylsäureester analoges Substrat untersucht werden. Die CN-Gruppe im Acrylnitril hat wie die Esterfunktion stark elektronenziehende Eigenschaften. Zur Reaktion wurden 200×10^{-3} mmol der Verbindung mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Das intensitätsstärkste ^{13}C -Spektrum der Messreihe ist gemeinsam mit der Molekülstruktur des Hydrierproduktes in Abbildung 8.2-3 gezeigt.

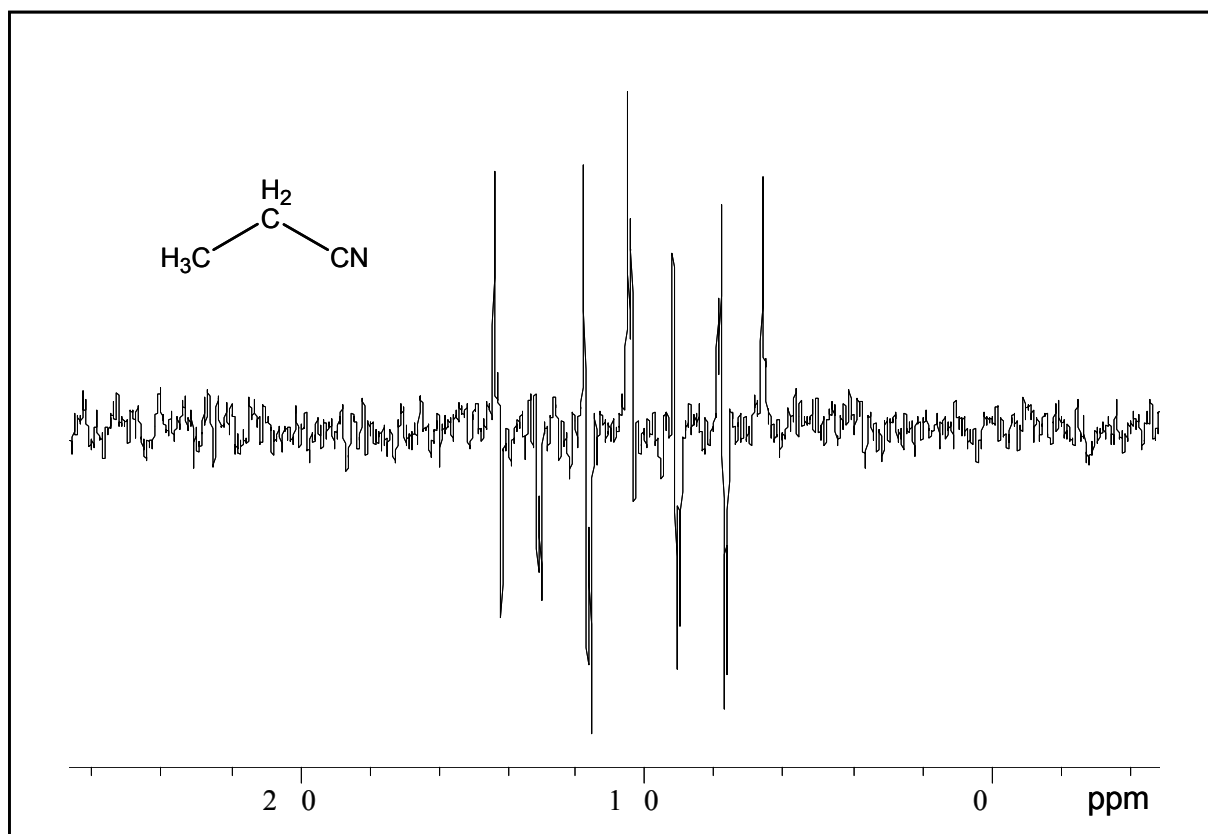


Abbildung 8.2-3: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von Acrylnitril

Im Spektrum erscheinen die Signale der aliphatischen Methyl- und Methylengruppe mit einer Verschiebung von 10.3 ppm ineinander verschoben. Das Quartett der Methylgruppe ist mit einer $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung von 130 Hz aufgespalten; die entsprechende Kopplung der Methylengruppe beträgt 135 Hz. Auch die $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen mit 5.0 Hz für die Methyl- und 4.5 Hz für die Methylengruppe sind noch gut aufgelöst. Die Tatsache, dass ein

entsprechendes Signal für den ^{13}C -Kern der Nitrilgruppe nicht beobachtet werden kann, lässt sich anhand der Verknüpfung zum Stickstoffkern verstehen, der zu einer deutlichen Verkürzung der Relaxationszeit führt.

Im strukturverwandten Acetonitril beträgt die Relaxationszeit des Nitrilkohlenstoffes nur 5 Sekunden, im Gegensatz zum ^{13}C -Kern der Methylgruppe, für den eine Relaxationszeit von 13 Sekunden ermittelt wurde [91]. Des Weiteren ist zu bemerken, dass der eingesetzte Rhodiumkatalysator die CN-Mehrfachbindung offensichtlich nicht angreift.

Transferverhalten bei der Hydrierung einfacher Alkene

Ein Polarisationstransfer an gesättigten, unfunktionalisierten Alkangerüsten konnte bisher nur im Falle des Norbornans dokumentiert werden. Ein Transfer an offenkettigen Alkangerüsten wurde bisher nicht untersucht. Bei den bisher geschilderten Experimenten zur Hydrierung von Doppelbindungen konnte ein zur Detektion ausreichender Polarisationstransfer nachgewiesen werden. Dies lässt sich zum Teil durch die Anwesenheit eines elektronenziehenden Substituenten und der damit bedingten hohen Umsatzrate bei der Hydrierung der nur einfach substituierten Doppelbindung verstehen. Es stellt sich nun die Frage, welchem dieser Faktoren die größere Bedeutung zukommt. Zum Vergleich mit den vorab geschilderten Experimenten wurde daher das Transferverhalten bei der Hydrierung von 1,4-Hexadien untersucht. Diese Verbindung enthält sowohl eine endständige, als auch eine interne Doppelbindung und kann daher gleichsam Informationen über den Einfluss sterischer Faktoren liefern. Zur Reaktion wurden 150×10^{-3} mmol der Verbindung mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Eines der aus der Messreihe entnommenen ^1H -Spektren, das nach ca. 40 Sekunden Hydrierzeit detektiert werden konnte, ist in Abbildung 8.2-4 dargestellt. Auch ohne eine genauere Zuordnung der erhaltenen Signale lässt sich durch die Vielzahl der sich teilweise überlagernden Polarisations-signale im aliphatischen Verschiebungsbereich die Hydrierung beider in der Ausgangsverbindung enthaltenen Doppelbindungen nachweisen.

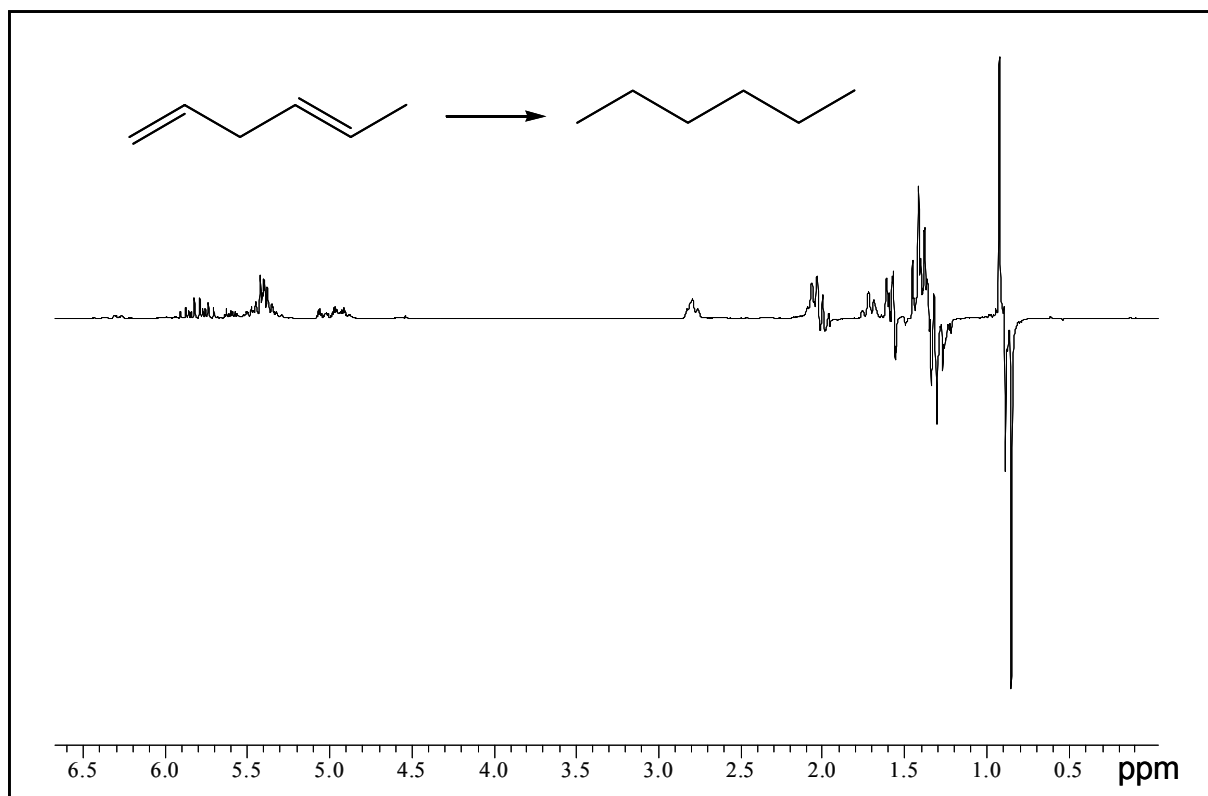


Abbildung 8.2-4: ^1H -Spektrum der Hydrierung von 1,4-Hexadien

Im korrespondierenden ^{13}C -Spektrum dieser Hydrierreaktion ist jedoch ein Transfer der auf dem ^1H -Kanal registrierten Polarisation kaum zu erkennen. Die für die entsprechenden Kerne erwarteten Polarisationsignale heben sich hier nur sehr schwach vom Untergrundrauschen ab. Der Grund für diese Beobachtung kann in einer verringerten Umsatzrate für dieses System liegen, da sich die Relaxationszeiten dieser Signale nur unwesentlich von denen der funktionalisierten Alkanketten unterscheiden sollten. Dieser Annahme soll im Folgenden weiter nachgegangen werden.

Einfluss sterischer Faktoren bei der Hydrierung zu identischen Produktpinsystemen

Wie für die vorangegangenen Experimente angedeutet wurde, spielt offensichtlich die Umsatzrate bei der die Polarisation erzeugenden Hydrierreaktion eine entscheidende Rolle. Da aber auch den Relaxationszeiten der entsprechenden Signale und den Kopplungsverhältnissen der Kerne untereinander ein deutlicher Stellenwert zukommt, soll in dem folgend geschilderten Experiment der Einfluss der letztgenannten Faktoren auf ein verändertes Transferverhalten ausgeschlossen werden.

Durch die Hydrierung von Malein- und Fumarsäuredimethylester gelangt man in beiden Fällen zu einem identischen Spinsystem, in dem folglich gleiche Kopplungsverhältnisse und gleiches Relaxationsverhalten anzutreffen sind. Zur Reaktion wurden jeweils ca. 10^{-1} mmol der Verbindung mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μ l Aceton- d_6 eingesetzt.

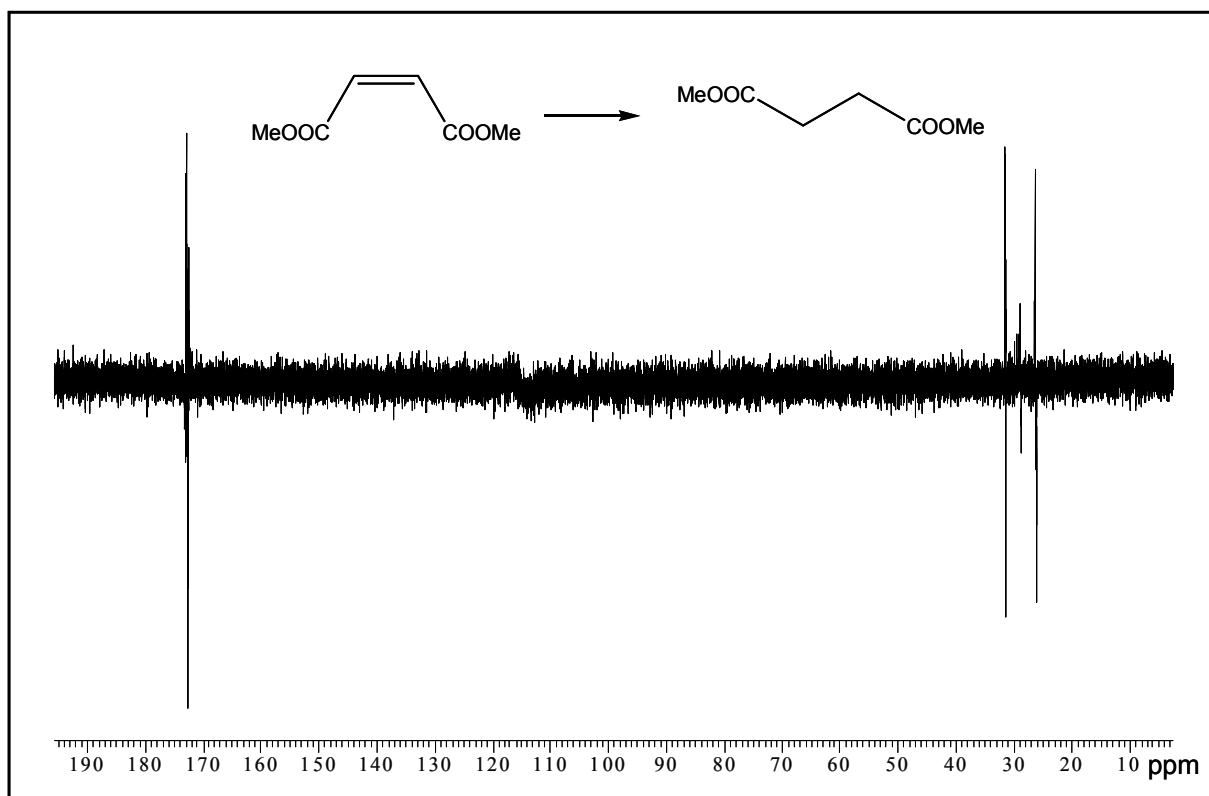


Abbildung 8.2-5: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von Maleinsäuredimethylester

Bei der Hydrierung des Fumarsäuredimethylesters kann auch nach wiederholten Hydrierschritten kein Polarisationsignal für die entsprechenden ^{13}C -Kerne beobachtet werden. Die Erzeugung spinpolarisierter Systeme bei der Hydrierung von Fumarsäurederivaten konnte jedoch auf dem ^1H -Kanal bereits nachgewiesen werden [84]. Die Hydrierung des Maleinsäuredimethylesters mit Parawasserstoff hingegen führt zu deutlich erkennbaren Polarisationsignalen für die im Produktmolekül auftretenden Kohlenstoffkerne. Das entsprechende Spektrum ist in Abbildung 8.2-5 dargestellt. Neben dem den Methylengruppen zuzuordnenden Triplet bei einer Verschiebung von 28.8 ppm und einer $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplungskonstanten von 130 Hz ist ein deutliches Antiphasensignal bei einer Verschiebung von 172.7 ppm mit hoher Intensität zu beobachten. Auf die Phasenlage

und die Aufspaltungsmuster soll wie erwähnt noch in einem gesonderten Kapitel eingegangen werden.

An dieser Stelle erfolgt zunächst die rein qualitative Feststellung eines möglichen Polarisationstransfers auf bestimmte Strukturen. Da im resultierenden Produktspinsystem gleiche Kopplungen und Relaxationszeiten der beteiligten Kerne anzutreffen sind, wie im Falle der Hydrierung des Fumarsäuredimethylesters, kann davon ausgegangen werden, dass hier allein die Herabsetzung der Hydrierrate bei der Umsetzung der sterisch schwieriger zugänglichen trans-substituierten Doppelbindung für das Ausbleiben der erwarteten ^{13}C -Polarisationssignale verantwortlich ist.

Betrachtet man die Struktur des erfolgreich polarisierten Produktspinsystems in Abbildung 8.2-5, so fällt auf, dass es sich hierbei bereits um ein Derivat eines der in Kapitel 7 beschriebenen interessanten Zielmoleküle handelt. Anders als bei dem schon vorher markierten Hydrierprodukt des Maleinsäureanhydrids [84] handelt es sich bei diesem Dimethylsuccinat um ein offenkettiges System. Die analoge Reaktion bei Einsatz des Dinatriumsalzes der Maleinsäure führte zu keinem positiven Ergebnis, was sich schon im Ausbleiben entsprechender Polarisationssignale auf dem ^1H -Kanal widerspiegelt. Vermutlich führt eine Koordination der Carboxylatgruppe zu einer Blockierung des Katalysators. Die magnetische Markierung des Dimethylderivates zeigt jedoch die grundsätzliche Möglichkeit des Polarisationstransfers an einer zu Stoffwechselintermediaten strukturanalogen Verbindung auf.

Polarisationstransfer an L-DOPA analogen Strukturen

Anhand der bisher geschilderten Experimente wird deutlich, dass sich die Anwesenheit elektronenziehender Substituenten besonders bei der Hydrierung von Doppelbindungen positiv auf den Transfer der Polarisation auf die ^{13}C -Kerne des Hydrierproduktes auswirkt. Die bisher untersuchten Strukturen haben, abgesehen von dem Succinatderivat, noch wenig Ähnlichkeit mit den in Kapitel 7 vorgestellten Zielmolekülen. Eines der interessantesten Systeme stellt das zur Bekämpfung der Parkinson-Krankheit eingesetzte L-DOPA dar, das auch bei der industriellen Synthese durch Hydrierung eines Zimtsäurederivats hergestellt wird. Da ein erfolgreicher Polarisationstransfer bei der Hydrierung des Acrylsäureesters bereits dokumentiert werden konnte, soll im Folgenden durch weitere Substitution der Doppelbindung eine Annäherung an die Struktur dieses Targetmoleküls erfolgen.

Im α -Acetamidomethylacrylat, dessen Hydrierreaktion neben der Struktur des L-DOPA in Abbildung 8.2-6 dargestellt ist, sind bereits zwei L-DOPA analoge Substituenten vorhanden.

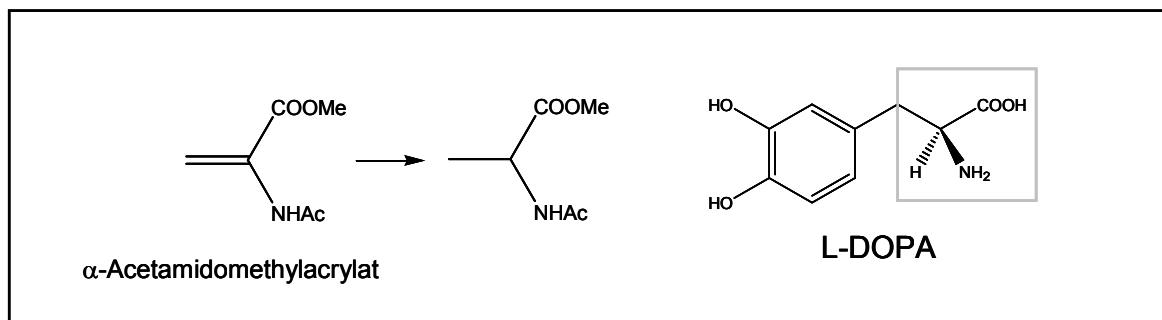


Abbildung 8.2-6: Strukturvergleich des Hydrierproduktes von α -Acetamidomethylacrylat mit L-DOPA

Zur Reaktion wurden 80×10^{-3} mmol α -Acetamidomethylacrylat mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μ l Aceton- d_6 eingesetzt. Abbildung 8.2-7 zeigt die vor und nach der Hydrierreaktion aufgenommenen thermischen ^1H -Spektren a) und d), sowie die nach einer Hydrierzeit von 10 und 40 Sekunden detektierten PHIP-Spektren b) und c) im Vergleich. Die Signale der olefinischen Protonen des Eduktes sind in diesen Ausschnitten aus Gründen der besseren Auflösung nicht gezeigt. Als Maßstab für die Umsetzung des Substrats können sowohl die Signale der Methylestergruppe bei einer Verschiebung von 2.1 ppm im Edukt und 1.89 ppm im Produkt, sowie die Signale der Methylprotonen der am Stickstoff gebundenen Acetylgruppe bei einer Verschiebung von 3.79 ppm (Edukt) und 3.65 ppm (Produkt) dienen. Das nach einer Hydrierzeit von nur 10 Sekunden erhaltene PHIP-Spektrum zeigt die charakteristischen Antiphasensignale der übertragenen Protonen bei einer Verschiebung von 1.3 ppm für die Methyl- und 4.4 ppm für die Methingruppe mit den $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplungen von 7.4 Hz. Die gerade noch erkennbaren Signale der Methylprotonen der N-Acetylgruppe, die für das Edukt und das Produkt in vergleichbarer Intensität erscheinen, lassen auf eine sehr schnelle Umsetzung des Substrates schließen. Im analogen Spektrum, das nach 40 Sekunden Hydrierzeit erhalten wurde, sind schließlich kaum noch Eduktsignale erkennbar.

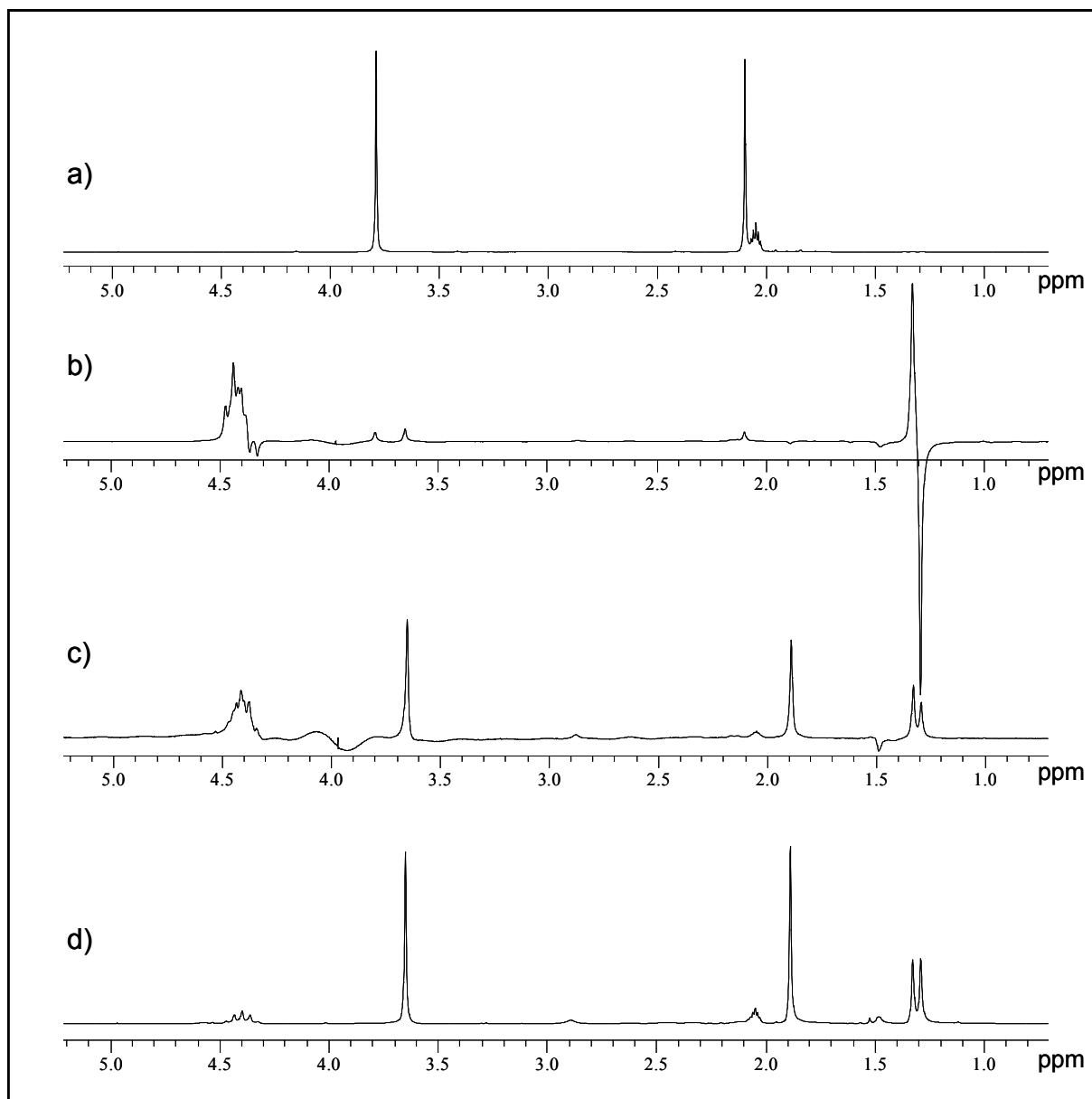


Abbildung 8.2-7: ^1H -Spektren der Hydrierung von α -Acetamidomethylacrylat zu *N*-Acetylalaninmethylester:
 a) thermisches Spektrum vor der Hydrierung
 b) PHIP-Spektrum nach einer Hydrierzeit von 10 Sekunden
 c) PHIP-Spektrum nach einer Hydrierzeit von 40 Sekunden
 d) thermisches Spektrum nach der Hydrierung

Die offensichtlich hohe Umsatzrate dieser Reaktion stellt gemäß den bisherigen Untersuchungen einen für die Detektion ausreichenden Transfer der Polarisation auf die entsprechenden ^{13}C -Kerne in Aussicht.

In den zugehörigen ^{13}C -Spektren sind jedoch nur sehr intensitätsschwache Signale auszumachen, die sich kaum vom Untergrundrauschen abheben. Da im Produktspinsystem ähnliche Kopplungsverhältnisse wie für das Hydrierprodukt des Acrylsäureesters herrschen, können die schwachen ^{13}C -Signale nur auf eine durch die N-Acetylgruppierung hervorgerufene Verringerung der Relaxationszeit zurückzuführen sein. Das Experiment weist jedoch darauf hin, dass die magnetische Markierung verwandter Strukturen auf diesem Wege prinzipiell möglich ist.

Die Detektion entsprechender Signale auf dem ^{13}C -Kanal ist grundsätzlich durch die geringe natürliche Häufigkeit dieses Kerns erschwert. Können im PHIP-Experiment keine Polarisations-signale für die ^{13}C -Kerne des Produktspinsystems registriert werden, ist dies nicht zwangsläufig ein Hinweis für das Ausbleiben eines erfolgreichen Transfers, sofern die Generierung der Polarisation im ^1H -Spektrum bewiesen werden kann. Ein wenig effektiver Transfer der Polarisation oder geringe Relaxationszeiten der entstandenen ^{13}C -Signale können die Detektion verhindern, obgleich ein Polarisations-transfer stattfindet. Um dieses Problem auszuschalten wird im folgenden Experiment mit einem ^{13}C -markierten Substrat gearbeitet. Die erfolgreiche Erzeugung spinpolarisierter Hydrierprodukte von α -Acetamidozimtsäurederivaten wurde bereits dokumentiert [89]. Ein Polarisations-transfer konnte an solchen Substraten bisher nicht festgestellt werden. Für das folgende Experiment wurde ein α -Acetamidozimtsäuremethylester verwendet, der eine ^{13}C -Markierung in β -Stellung aufweist. Die Reaktion wurde mit 40×10^{-3} mmol des Substrates und gleiche Katalysator- sowie Lösungsmittelmengen wie in den zuvor geschilderten Experimenten durchgeführt. Im resultierenden ^{13}C -Spektrum, das nach einer Hydrierzeit von ca. 30 Sekunden detektiert wurde, ist nur ein dem Produktspinsystem zuzuordnendes ^{13}C -Signal sichtbar. Dieses Spektrum ist mit der Struktur des Hydrierproduktes in Abbildung 8.2-8 dargestellt. Das detektierte Signal bei einer Verschiebung von 37.8 ppm und einer $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung von 134 Hz zu zwei direkt gebundenen Protonen stammt eindeutig von der mit ^{13}C markierten Position. Auch die $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung zum polarisierten Methinproton in α -Position, die in Antiphase erscheint, ist mit 8 Hz noch gut aufgelöst.

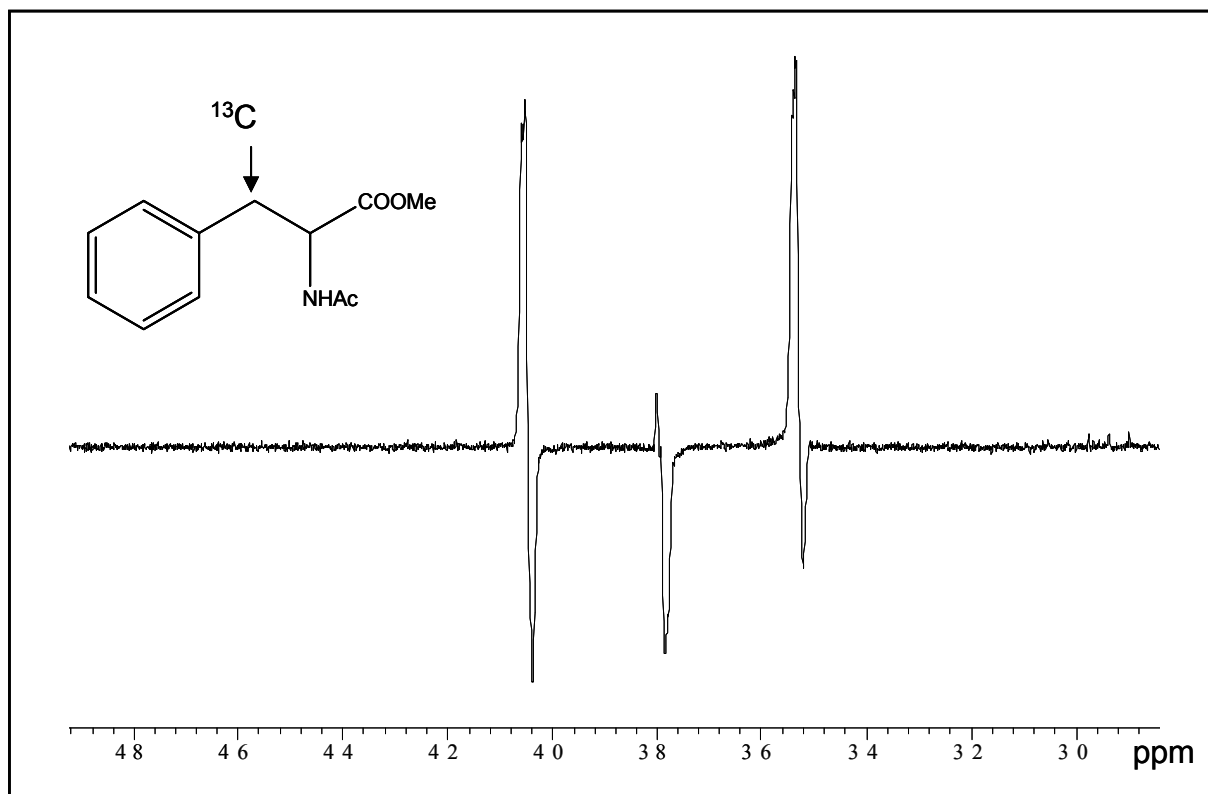


Abbildung 8.2-8: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von α -Acetamido- β - ^{13}C -zimtsäuremethylester

An diesem Beispiel wird deutlich, dass das Ausbleiben entsprechender Polarisationsignale im ^{13}C -Kanal nicht unmittelbar darauf zurückzuführen ist, dass ein Transfer der Polarisation nicht stattgefunden hat. Die Tatsache, dass für die nicht markierten Positionen keine Signale beobachtet werden, zeigt lediglich an, dass der Transfer für eine Detektion unter diesen Bedingungen nicht ausreichend ist. Das starke Polarisationsignal der markierten Position zeigt jedoch, dass eine magnetische Markierung dieser und analoger Strukturen dennoch grundsätzlich möglich sein kann.

8.3 Einfluss der Molekülgröße

Aus den bisher geschilderten Experimenten lässt sich deutlich erkennen, dass sich der Transfer der Polarisation nicht nur auf die dem Hydrierzentrum direkt benachbarten ^{13}C -Kerne beschränkt. Es ist vielmehr davon auszugehen, dass die Polarisation über das gesamte Molekülgerüst verteilt wird. Diese Beobachtung konnte für kleinere Systeme bestätigt werden [81].

Das Hydrierprodukt des Diphenylbutadiins ist mit 16 C-Atomen das bisher größte Molekül, an dem ein erfolgreicher Polarisationstransfer ohne Anwendung spezieller Pulssequenzen beobachtet werden konnte. Damit stellt sich die Frage, inwieweit der Effekt durch die Molekülgröße beeinflusst wird. Erfolgt tatsächlich eine "Verteilung" der Polarisation auf das gesamte Molekül, sollte die Detektion der ^{13}C -Polarisation bei entsprechend großen Molekülen erschwert sein. Zur Überprüfung dieser Annahme wurde als Substrat ein Steroidgerüst mit einer hydrierbaren Alkinseitenkette ausgewählt. Es handelt sich hierbei um 17- α -Ethinylestradiol, das als Antikonzeptivum seit vielen Jahren im Handel ist.

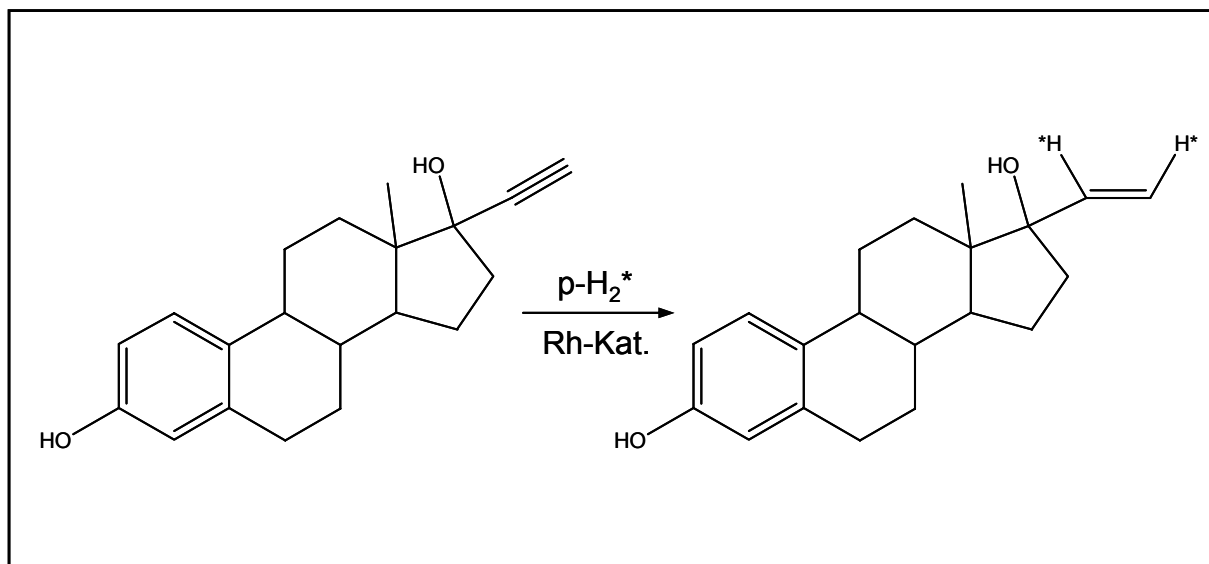


Abbildung 8.3-1: Hydrierung von 17- α -Ethinylestradiol

Die entsprechende Hydrierreaktion ist in Abbildung 8.3-1 dargestellt. Es ist anzunehmen, dass einem erfolgreichen Polarisationstransfer an diesem System nichts entgegensteht, sofern die Reaktion unter Erhaltung der Spinkorrelation der übertragenen Parawasserstoffatome erfolgt. Dieser Sachverhalt lässt sich wie für die vorherigen Experimente einfach durch die Detektion der entsprechenden Signale auf dem ^1H -Kanal überprüfen. Zur Reaktion wurden 47×10^{-3} mmol der Verbindung mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. In Abbildung 8.3-2 ist das zugehörige ^1H -Spektrum dargestellt, welches durch das Auftreten der charakteristischen Antiphasensignale im olefinischen Verschiebungsbereich die Erzeugung der für einen Transfer grundlegenden Polarisation bestätigt.

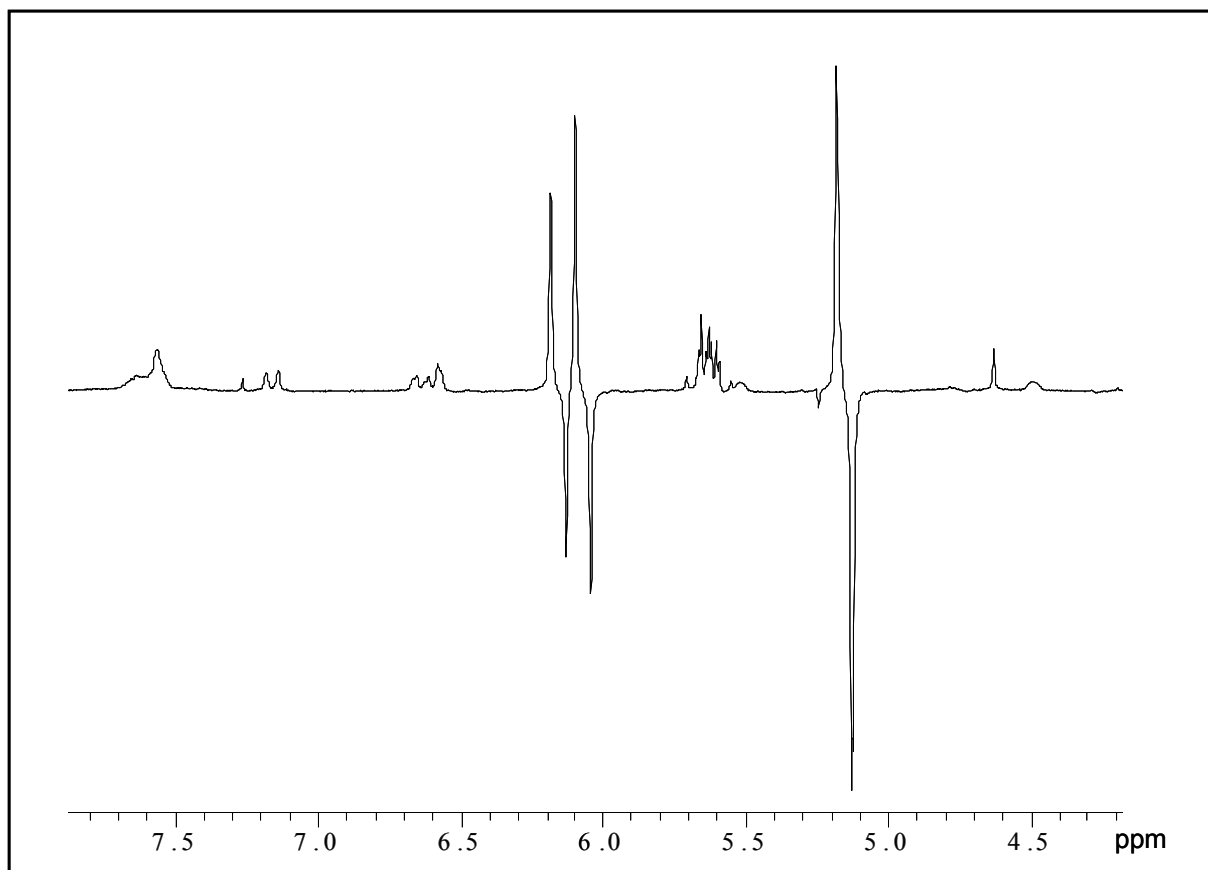


Abbildung 8.3-2: ^1H -Spektrum der Hydrierung von 17- α -Ethinylestradiol

Das Signal des ^1H -Kerns der Methingruppe erscheint bei einer Verschiebung von 6.1 ppm und ist durch eine $^3J_{\text{HH}}$ -Kopplung von 10.9 Hz zum cis-ständigen Proton in Antiphase aufgespalten. Die zweite Kopplung zum nicht-polarisierten, trans-ständigen Proton führt zu einer weiteren Aufspaltung des Signals durch die $^3J_{\text{HH}}$ -Kopplung von 17.4 Hz. Das polarisierte Proton der Methylengruppe liefert ein Signal bei 5.13 ppm und zeigt die charakteristische Antiphasenaufspaltung durch die entsprechende cis-Kopplung zum Proton der Methingruppe. Die intensiven Polarisations-signale der übertragenen Protonen zeigen eine gute Umsatzrate an und lassen vermuten, dass ein Transfer dieser Polarisation auf die ^{13}C -Kerne dieser Verbindung stattfindet. Die Detektion der entsprechenden Signale auf dem ^{13}C -Kanal führt jedoch zu keinem positiven Ergebnis. Dies bedeutet jedoch nicht zwangsläufig, dass ein Transfer auf diese Kerne nicht stattfindet. Es besteht auch die Möglichkeit, dass der Transfer zu keiner ausreichenden Signalüberhöhung führt. Es stellt sich nun die Frage, ob der Polarisations-transfer an diesem System durch ungünstige Kopplungsverhältnisse verhindert oder abgeschwächt wird.

Ist dies nicht der Fall, so kann davon ausgegangen werden, dass die Signalintensitäten durch eine verkürzte Relaxationszeit, die durch die Molekülgröße bedingt ist, für eine Detektion der ^{13}C -Signale zu schwach sind.. Zur Klärung dieser Frage wird ein System vermessen, das einem Teilbaustein des untersuchten Steroidgerüsts entspricht. Bei 1-Ethynylcyclopentanol handelt es sich um ein isostrukturelles Teilgerüst, dessen Hydrierung in Abbildung 8.3-3 dargestellt ist. Im Hydrierprodukt müssen dann ähnliche Kopplungsverhältnisse wie im größeren Steroidgerüst vorliegen.

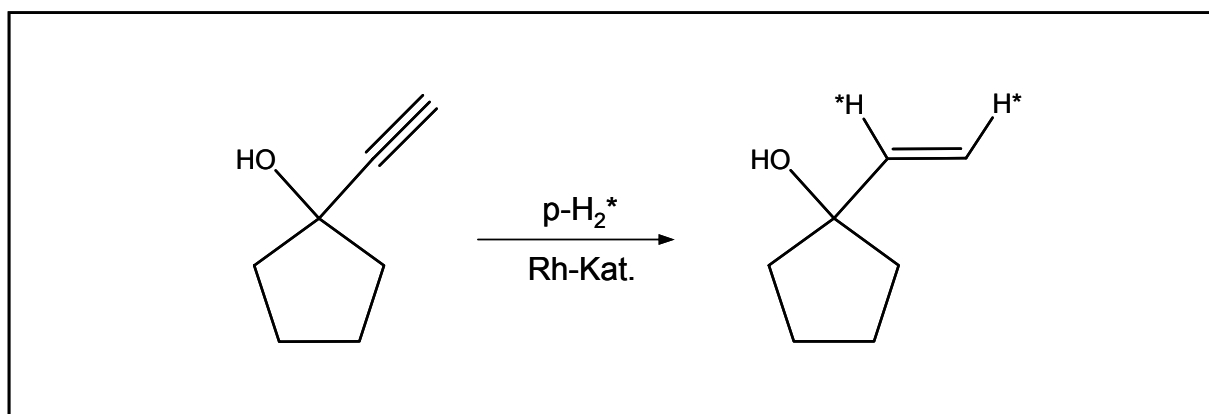


Abbildung 8.3-3: Hydrierung von 1-Ethynylcyclopentanol

Zur Reaktion wurden 54×10^{-3} mmol 1-Ethynylcyclopentanol mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Die Detektion der Polarisationsignale auf dem ^1H -Kanal liefert das in Abbildung 8.3-4 gezeigte Spektrum. Die Annahme, dass in diesem System bezüglich der übertragenen Protonen ähnliche Kopplungsverhältnisse anzutreffen sind, kann durch die entsprechenden Signale bestätigt werden. Das polarisierte Methinproton (a) erscheint hier bei einer Verschiebung von 5.98 ppm und weist eine $^3J_{\text{HH-cis}}$ -Kopplung von 10.6 Hz und eine $^3J_{\text{HH-trans}}$ -Kopplung von 17.4 Hz auf. Die entsprechende $^3J_{\text{HH-cis}}$ -Kopplung findet sich auch im Signal des polarisierten Methylenprotons (b) bei einer Verschiebung von 4.9 ppm wieder. Auffällig in diesem Spektrum ist hier zunächst, dass offensichtlich auch das dritte am Hydrierzentrum befindliche Proton (c) von der Polarisation profitiert. Das Signal bei einer Verschiebung von 5.3 ppm ist durch die trans-Kopplung zum polarisierten Proton (a) aufgespalten. Auch die geminale Kopplung mit 2.1 Hz ist noch gut aufgelöst.

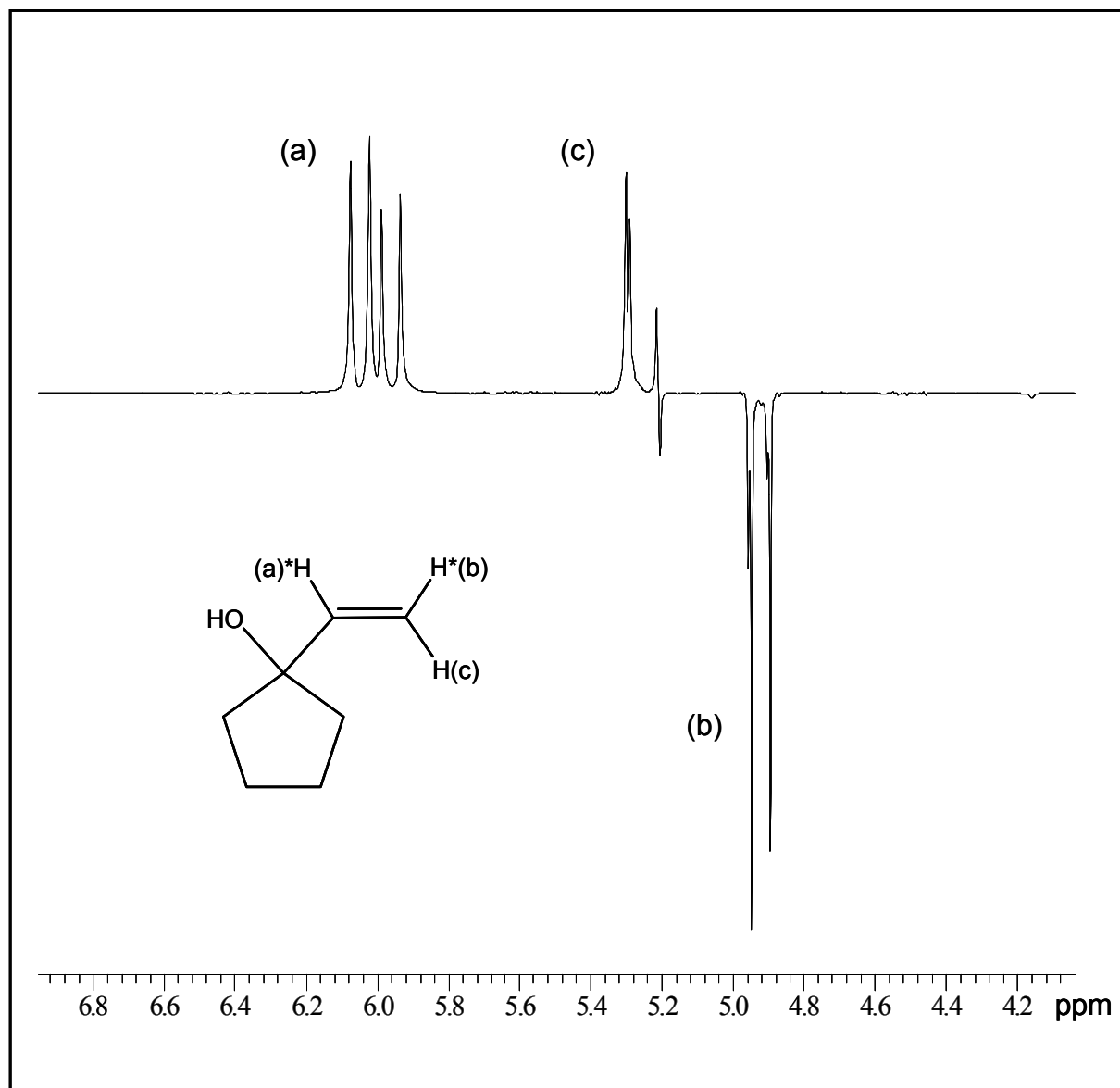


Abbildung 8.3-4: ^1H -Spektrum der Hydrierung von 1-Ethynylcyclopentanol

Dieser Effekt wurde schon für andere Systeme bei der Hydrierung unter ALTADENA-Bedingungen beobachtet [76]. Im schwachen Erdmagnetfeld besitzen die Protonen des Spinsystems alle die gleiche chemische Verschiebung (eine Verschiebungsdifferenz von 1 ppm entspricht im Erdmagnetfeld ca. 0.002 Hz). Die Übertragung der polarisierten Protonen erfolgt also in jedem Fall auf ein stark gekoppeltes Spinsystem. So kann die Polarisation durch isotropes Mischen über weitere Protonen verteilt werden, wenn diese durch skalare Kopplungen mit den übertragenen Protonen verbunden sind.

Abgesehen von der Tatsache, dass dieser Effekt bei der Hydrierung der Steroidverbindung nicht beobachtet wird, fällt auf, dass die Phasenlagen der Signale im Spektrum der Abbildung 8.3-2 und 8.3-4 deutlich voneinander abweichen. Die Phasenlage der auf das Cyclopentanolderivat übertragenen Protonen entspricht der, die für ein ALTADENA-Experiment erwartet wird (Kap. 3.2). Die Signale der auf die Steroidverbindung übertragenen Protonen zeigen durch die Antiphasenaufspaltung dieser Kerne zueinander eher ein für PASADENA-Experimente charakteristisches Muster. Grundsätzlich kommt dieser Effekt dadurch zustande, dass die die Polarisation erzeugende Hydrierreaktion nach Einleiten des Parawasserstoffes bei ALTADENA-Experimenten auch nach Einbringen der Probe in das Spektrometer noch fortlaufen kann. In jedem ALTADENA-Spektrum können also zusätzlich noch PASADENA-Anteile überlagert sein. Für den Fall, dass die im ALTADENA-Experiment generierte Polarisation im Spektrum anschließend reine PASADENA-Signale liefert, ist davon auszugehen, dass ein Großteil der Polarisation erst einige Zeit nach dem Start der Hydrierung, also innerhalb des Spektrometers entstanden ist. Das könnte bedeuten, dass die entsprechende Hydrierreaktion vergleichsweise langsam abläuft. Für den Vergleich der beiden Experimente lässt sich damit eine schnellere Umsatzrate für die Hydrierung des 1-Ethynylcyclopentanolis vermuten. Um festzustellen, inwieweit sich diese Faktoren wie die geringe Molekülgröße und die schnelle Umsetzung auf einen Transfer der Polarisation auswirken, wurden verschiedene ^{13}C -Spektren nach dem für die vorhergehenden Experimente beschriebenen Verfahren detektiert. Das intensitätsstärkste Spektrum, das nach einer Hydrierzeit von ca. 40 Sekunden erhalten wurde, ist in Abbildung 8.3-5 gezeigt. Tatsächlich sind für die direkt mit den übertragenen Protonen verknüpften ^{13}C -Kerne zwei ausgesprochen intensive Signale zu beobachten. Die CH-Gruppe erscheint bei einer Verschiebung von 146 ppm mit einer $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung von 153 Hz. Der ^{13}C -Kern der Methylengruppe ist als Triplett mit einer $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung von 155 Hz bei 110.4 ppm sichtbar. Das Gelingen eines Polarisationstransfers an dieser Teilstruktur des vorher betrachteten Steroidmoleküls kann sowohl auf die höhere Hydrierrate als auch auf die kleinere Struktur zurückgeführt werden. Betrachtet man die Struktur des Hydrierproduktes, erwartet man im Hinblick auf die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen für den quartären ^{13}C -Kern in Nachbarschaft zum Hydrierzentrum ein zumindest detektierbares Signal. Es ist anzunehmen, dass dieser Kern eine effektive Kopplung zu den übertragenen Protonen aufweist.

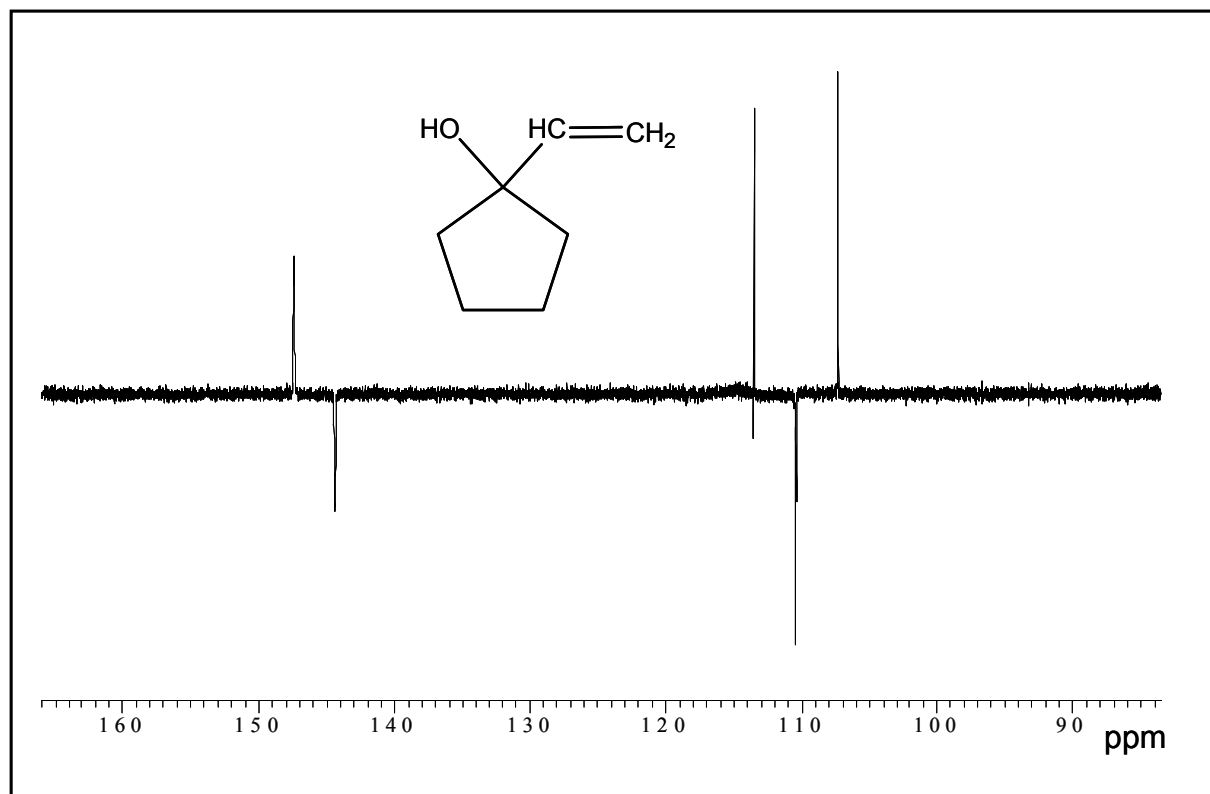


Abbildung 8.3-5: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von 1-Ethynylcyclopentanol

Bis auf die beiden C-Atome am Hydrierzentrum dieser Verbindung ist jedoch kein weiteres Signal im Spektrum sichtbar. Eine mögliche Erklärung für dieses eher unerwartete Ergebnis könnte in dem auf dem ^1H -Kanal beobachteten Transfer der Polarisation auf ein weiteres Proton liegen. Um diese Annahme zu überprüfen, wird wiederum ein Teilbaustein des betrachteten Systems untersucht, der sich zumindest bezüglich der für die Protonen generierten Polarisation in gleicher Weise verhalten sollte. Als Vergleichssystem wurde hier 3-Butin-2-ol ausgewählt. Zur Reaktion wurden gleiche Stoffmengen wie im Falle des 1-Ethynylcyclopentanol eingesetzt. Die entsprechende Hydrierreaktion ist mit einem Ausschnitt des zugehörigen ^1H -Spektrums in Abbildung 8.3-6 dargestellt. Ein Vergleich mit dem entsprechenden Spektrum, das durch Hydrierung des 1-Ethynylcyclopentanol erzeugt wurde (Abb. 8.3-4) zeigt, dass auch in diesem Fall ein deutlicher Transfer der Polarisation auf das benachbarte Proton der Methylengruppe stattfindet. Die Zuordnungen können anhand der Bezifferungen direkt in der Darstellung abgelesen werden.

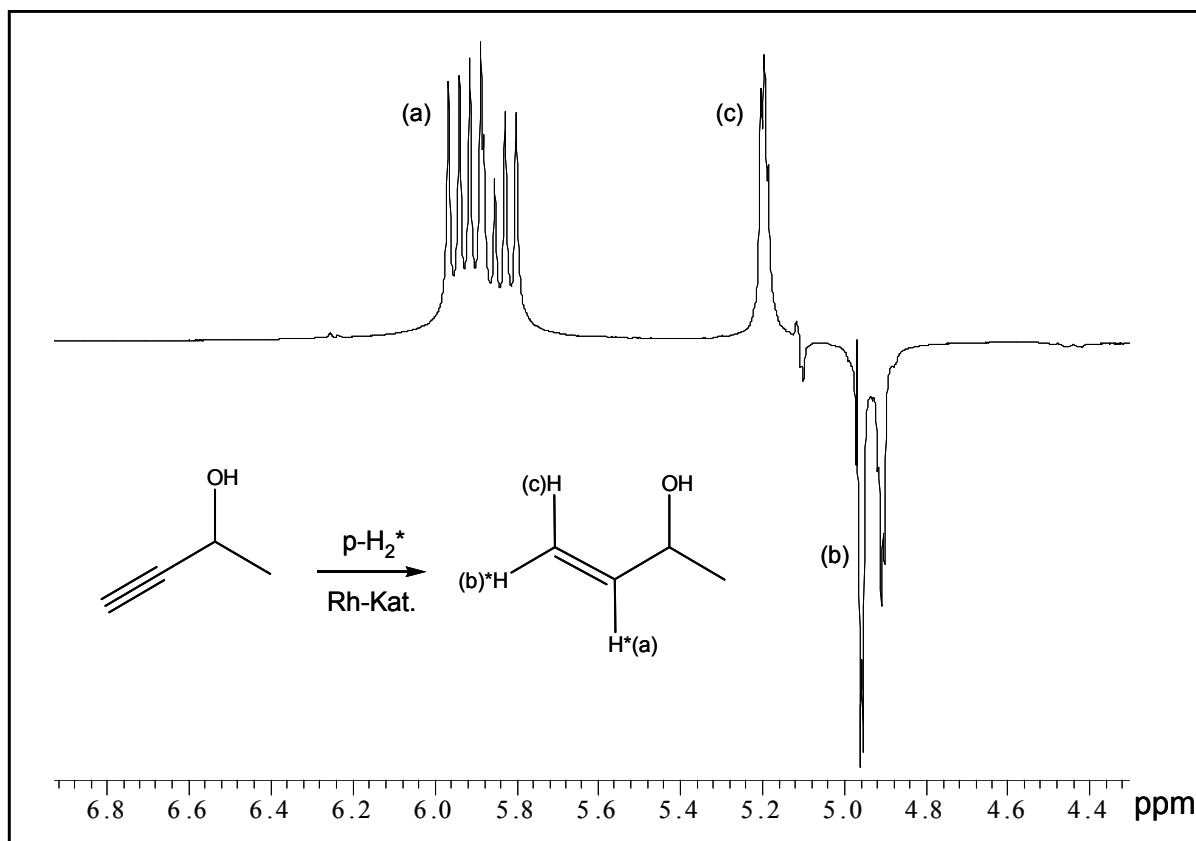


Abbildung 8.3-6: Ausschnitt aus dem ^1H -Spektrum der Hydrierung von 3-Butin-2-ol

Die Signale im zugehörigen ^{13}C -Spektrum lassen erkennen, dass in diesem Fall die Polarisation nicht nur auf die direkt mit dem Parawasserstoff verknüpften Kerne, sondern auch auf die benachbarten C-Atome übertragen wird. Auf die für dieses System detektierten Spektren soll jedoch noch in einem gesonderten Kapitel (11) eingegangen werden, da hier noch eine weitere, interessante Beobachtung gemacht werden konnte. Die Tatsache, dass auch für dieses System der Effekt des isotropen Mischens bezüglich der am Hydrierzentrum befindlichen Protonen auftritt, lässt darauf schließen, dass der analoge Vorgang im Falle der Hydrierung des 1-Ethynylcyclopentanol nicht für das Fehlen weiterer Signale auf dem ^{13}C -Kanal verantwortlich sein kann. Da es sich bei dem Hydrierprodukt um kein sonderlich großes Molekül handelt, muss davon ausgegangen werden, dass die Relaxationszeiten in diesem Ringsystem durch eine Erhöhung der Korrelationszeit so stark herabgesetzt sind, dass eine Detektion der Signale im gesetzten Zeitraum nicht möglich ist.

Um den Einfluss der Molekülgröße an einem weiteren System zu untersuchen, wurde eine einfache, alkylsubstituierte Alkinverbindung umgesetzt. Bereits in früheren Experimenten konnte gezeigt werden, dass bei der Hydrierung ähnlicher Verbindungen eine Verteilung der Polarisation auf alle im Molekül enthaltenen ^{13}C -Kerne stattfindet [81]. Beobachtet man dort die Intensität der detektierten Polarisationssignale in Abhängigkeit von der Kettenlänge gleichartiger Substituenten, so stellt man fest, dass diese mit steigender Kettenlänge abnimmt. In der Reihe der untersuchten Systeme waren bei der Hydrierung von 4-Octin (längste Kette) noch deutliche Signale im ^{13}C -Kanal detektierbar. Um diese Reihe zu ergänzen, wird hier ein analoges, um ein C-Atom verlängertes System vermessen. Zur Reaktion wurden 100×10^{-3} mmol 4-Nonin mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Das für dieses System erhaltene ^{13}C -Spektrum ist mit der Struktur des Hydrierproduktes in Abbildung 8.3-7 gezeigt.

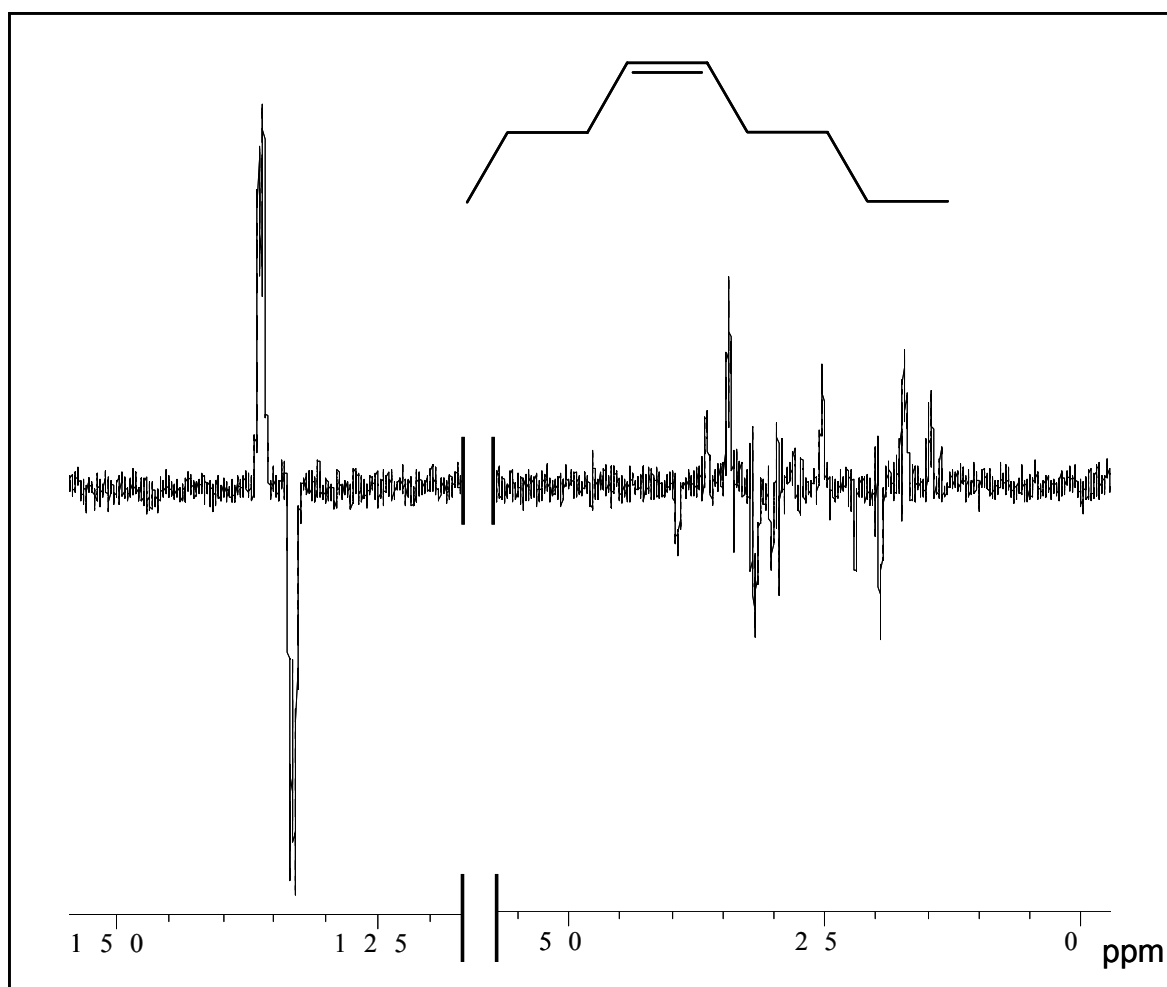


Abbildung 8.3-7: Ausschnitte aus dem ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von 4-Nonin

Das intensitätsstärkste Signal bei einer Verschiebung von 135 ppm setzt sich aus einer Überlagerung der Resonanzen der olefinischen ^{13}C -Kerne zusammen. Die $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen führen jeweils zu einer Antiphasenaufspaltung mit 153 Hz. Im aliphatischen Verschiebungsbereich zwischen 13 ppm und 39.8 ppm ist eine Vielzahl weiterer Signale sichtbar, was zeigt, dass auch hier die Polarisierung offensichtlich über das gesamte Molekül verteilt wird. Daraus kann gefolgert werden, dass im Hinblick auf aliphatische Moleküle die Grenze eines detektierbaren Polarisierungstransfers bei einer Zahl von neun C-Atomen noch nicht erreicht ist. Dies ist eine durchaus wichtige Feststellung, da eines der vielversprechendsten Targetsysteme, die Valproinsäure, aus einem Molekülgerüst mit acht, vorwiegend aliphatischen ^{13}C -Kernen besteht.

8.4 Ester und Säuren

Unter den in Kapitel 7 vorgestellten interessanten Targetsystemen befinden sich verschiedene Strukturen mit freien Carboxylfunktionen, wie zum Beispiel die Valproinsäure. Ein erfolgreicher Polarisierungstransfer auf die Carbonylfunktion einer Estergruppierung konnte bereits in einigen Fällen nachgewiesen werden (siehe oben). Ein Transfer der Polarisierung an Systemen mit freier Säurefunktion ist bisher nicht festgestellt worden. Im Folgenden soll daher das Verhalten analoger Systeme, die sich nur im Hinblick auf die Veresterung unterscheiden, bezüglich des Transfers auf den ^{13}C -Kern untersucht werden.

Zu Beginn dieses Kapitels wurde bereits der erfolgreiche Transfer der Parawasserstoff Induzierten Polarisierung auf die ^{13}C -Kerne des Phenylpropionalsäureethylesters beschrieben. Zum Vergleich wird die Phenylpropionalsäure unter gleichen Bedingungen mit Parawasserstoff hydriert. Zur Reaktion wurden 95×10^{-3} mmol des Substrats mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Erstaunlicherweise können in den zugehörigen ^{13}C -Spektren keinerlei Signale detektiert werden. Da für die freie Säure folglich keine Vergleichsdaten im Hinblick auf die ^{13}C -Polarisierung zur Verfügung stehen, sind in Abbildung 8.4-1 die ^1H -Polarisationsspektren beider Hydrierreaktionen gegenübergestellt. Es fällt sofort auf, dass die Phasenlage der erhaltenen Signale für die Hydrierung der freien Säure, im Gegensatz zur analogen Umsetzung des Esters, ein für PASADENA-Experimente charakteristisches Aufspaltungsmuster zeigt.

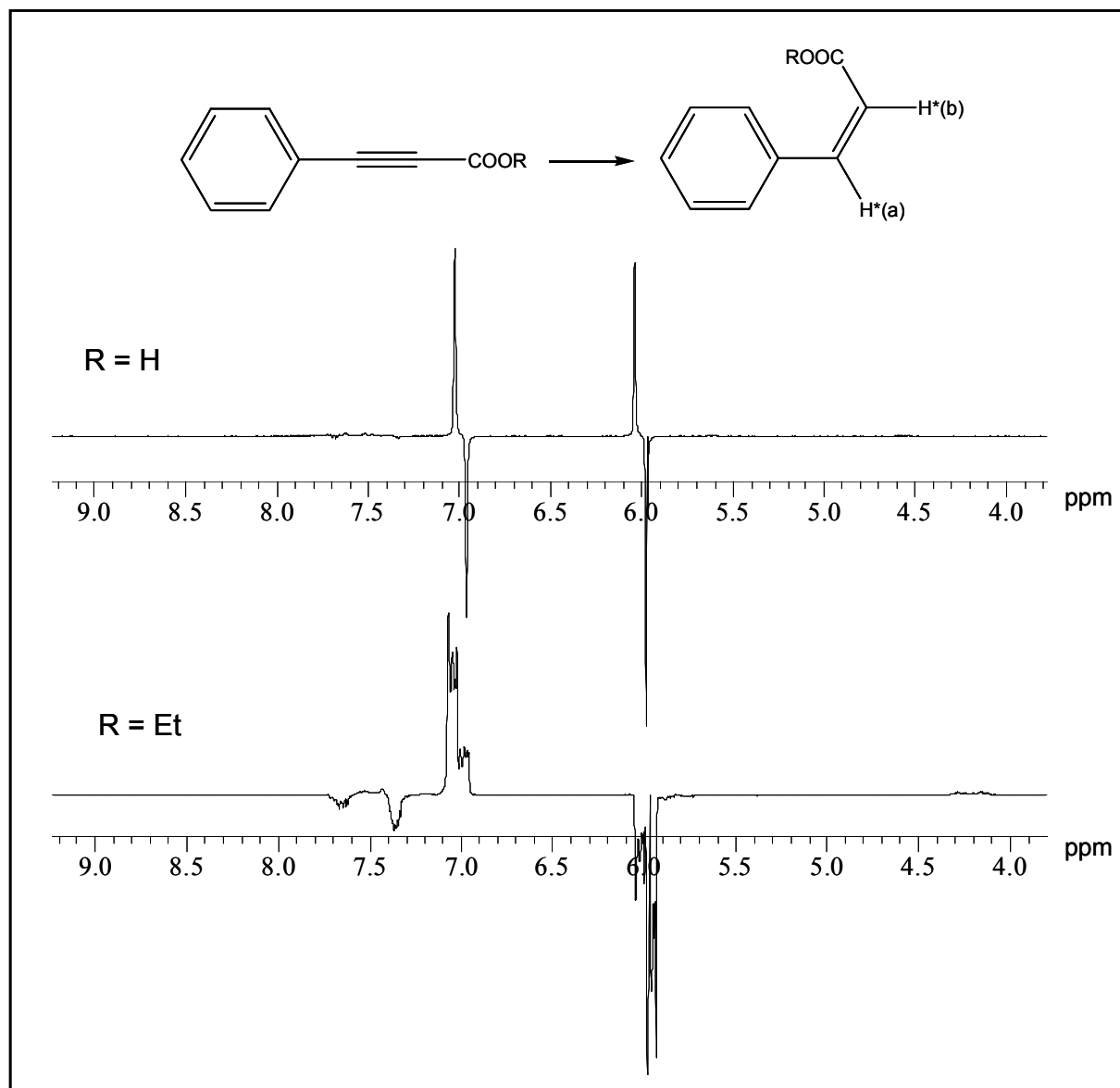


Abbildung 8.4-1: Ausschnitt aus den ¹H-Spektrum der Hydrierung von Phenylpropionsäure und dem entsprechenden Ethylester

Ein ähnliches Verhalten konnte schon bei einem Vergleich der entsprechenden Spektren für die Hydrierung von 17- α -Ethinylestradiol und 1-Ethinylcyclopentanol beobachtet werden (Kap. 8.3). Es stellt sich nun die Frage, inwieweit das Auftreten charakteristischer ALTADENA-Signale auf dem ¹H-Kanal im Zusammenhang mit einer Detektion von Polarisationsignalen auf den entsprechenden ¹³C-Kernen steht. Der Umkehrschluss, dass die für PASADENA-Bedingungen charakteristische Antiphasenaufspaltung bezüglich der Kopplung der übertragenen Protonen einen für die Detektion nicht ausreichenden Transfer auf die ¹³C-Kerne anzeigt, kann einen anschaulichen Beitrag zur Klärung dieser Frage

liefern. Für das Auftreten eher PASADENA-typischer Signale können zwei Faktoren verantwortlich sein. Zum einen kann eine verlangsamte Umsetzung des Substrates dazu führen, dass der maßgebliche Teil der für die Erzeugung des PHIP-Effektes verantwortlichen Hydrierreaktion erst nach Einbringen der Probe, also innerhalb des Spektrometers stattfindet. Die Antiphasenkopplung der detektierten Signale zeigt dann die Population der Kernspinzustände mit Singulettcharakter im resultierenden schwach gekoppelten AX-Spinsystem an. Reine ALTADENA-Signale werden nur dann erhalten, wenn die Hydrierreaktion im schwachen Erdmagnetfeld stattfindet, da die Übertragung des Parawasserstoffs hier auf ein stark gekoppeltes A₂-Spinsystem erfolgt (Kap. 3.2), für das im Falle eines 2-Spinsystems nur ein Kernspinzustand mit Singulettsymmetrie formuliert werden kann, der dann ausschließlich besetzt wird. Treten nun in einem ALTADENA-Experiment Signale auf, die eine Antiphasenkopplung bezüglich der übertragenen Protonen aufweisen, so bedeutet dies in erster Linie, dass die Übertragung des Parawasserstoffes auf ein asymmetrisches AX-Spinsystem stattgefunden haben muss. Dies kann wie erläutert durch eine langsame Umsetzung, aber auch durch den Einfluss des Magnetstreuelfelds erklärt werden. Bei den Hydrierprodukten der hier beschriebenen Systeme handelt es sich eindeutig um unsymmetrische AX-Spinsysteme. Der Einfluss eines starken Streufelds bei der Hydrierung (Reaktion in der Nähe des Spektrometers) könnte einen Unterschied der Präzessionsfrequenzen der übertragenen Kerne zur Folge haben und damit eine weitere Erklärung für das beobachtete Phänomen aufzeigen. In diesem Fall könnte das Ausbleiben der Polarisations-signale für die entsprechenden ¹³C-Kerne auf eine schwache Kopplung der übertragenen Protonen zurückzuführen sein. Der Einfluss des Magnetfeldes auf den Polarisations-transfer soll daher an einem asymmetrischen Spinsystem in Kapitel 12 noch eingehend untersucht werden.

In den Vergleichsspektren der Abbildung 8.4-1 ist weiterhin erkennbar, dass im Falle der Hydrierung des Phenylpropionsäureethylesters auch ein Transfer der Polarisation auf die Protonen des Phenylrings stattgefunden hat, was an den Emissionssignalen im aromatischen Verschiebungsbereich erkennbar ist. Der Effekt des isotropen Mischens, der schon bei der Hydrierung des 3-Butin-2-ols beobachtet werden konnte, ist ein weiteres Indiz für die starke Kopplung aller Protonen des Spinsystems durch die Aufhebung der Verschiebungsdifferenzen im schwachen Magnetfeld.

Zum weiteren Vergleich des Verhaltens von Estern und Säuren im Hinblick auf den Polarisations-transfer wurde die Hydrierung von Acetylendicarbonsäuredimethylester und der entsprechenden Säure herangezogen.

Der Ester dieses Substrats hat sich schon in der Vergangenheit als ein ausgezeichnetes System für die Beobachtung des untersuchten Effektes erwiesen [39]. Da es sich hier um ein symmetrisches Spinsystem handelt, erfolgt die Übertragung des Parawasserstoffs, unabhängig von der Stärke des während der Hydrierung herrschenden Magnetfelds, in jedem Fall auf ein stark gekoppeltes Spinsystem. Zur Reaktion wurden jeweils 140×10^{-3} mmol der Verbindung mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Auch in diesem Vergleichsexperiment konnten im Falle der Hydrierung der freien Säure im Gegensatz zum Ester keine entsprechenden Signale auf dem ^{13}C -Kanal beobachtet werden. In Abbildung 8.4-2 sind daher wieder die durch die Hydrierung erhaltenen Protonenspektren gegenübergestellt.

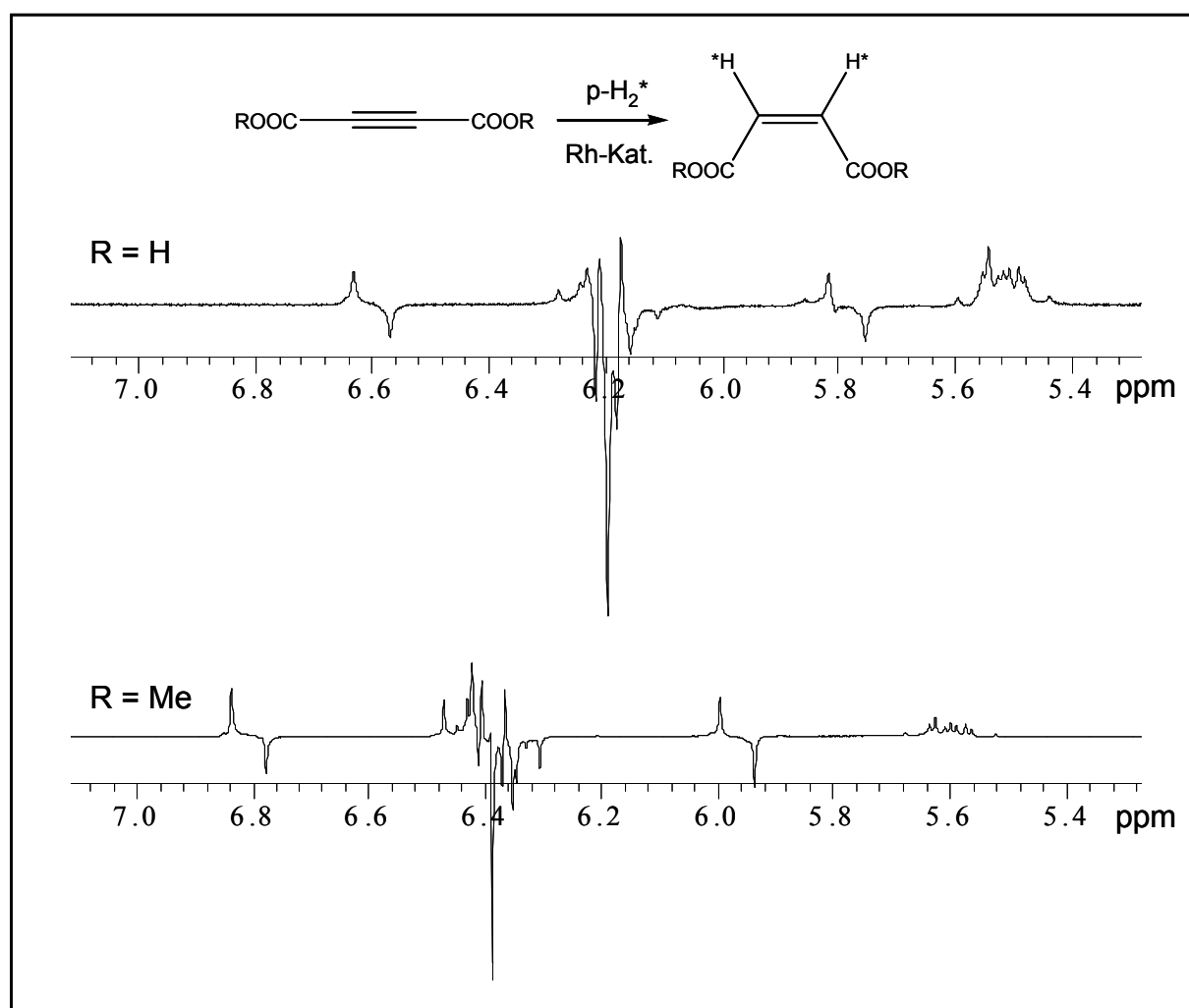


Abbildung 8.4-2: Ausschnitt aus den ^1H -Spektren der Hydrierung von Acetylendicarbonsäure und dem entsprechenden Ester

Eine genaue Analyse des Spektrums für den Acetylendicarbonsäuredimethylester findet sich in der Dissertation von J. Barkemeyer [76]. An dieser Stelle wird sich daher auf einen rein qualitativen Vergleich der erhaltenen Signalmuster beschränkt. Trotz einer etwas schlechteren Auflösung des für die Hydrierung der freien Säure erhaltenen Protonenspektrums lässt sich erkennen, dass die erhaltenen Signalmuster nahezu identisch sind. Abgesehen von einem Unterschied in der chemischen Verschiebung können sogar die Kopplungen als gleichwertig ausgelesen werden. Die analoge Phasenlage der erhaltenen Signale sowie die nahezu identischen Kopplungsverhältnisse lassen auf eine vergleichbare, für die detektierten Übergänge grundlegende Besetzung der beteiligten Kernspinniveaus schließen. Eine mögliche Erklärung für das Ausbleiben entsprechender Signale für die ^{13}C -Kerne im Falle der freien Säure kann in der Annahme einer verminderten Reaktionsrate gefunden werden. Auf die Frage, ob die Erniedrigung des pH-Wertes oder aber die räumliche Nähe der Carboxylfunktion zum Hydrierzentrum für die verringerte Umsatzrate verantwortlich ist, soll im Folgenden noch genauer eingegangen werden.

Ein weiterer wichtiger Faktor, der bei PHIP-Experimenten mit Strukturen, die freie Carboxylfunktionen enthalten, beachtet werden muss, ist die Tendenz der Assoziation bei solchen Verbindungen. Carbonsäuren zeigen grundsätzlich eine starke Neigung zur Bildung von dimeren Assoziaten in Lösung über die Ausbildung von Wasserstoffbrücken. Dies führt zu einer Erhöhung des effektiven Molekulargewichtes und damit zu einer gesteigerten Korrelationszeit für das betrachtete Molekül. Es ist also davon auszugehen, dass die Relaxationszeiten für die Signale der freien Säuren geringer sind, als die der analogen Ester.

Da offensichtlich sowohl symmetrisch als auch asymmetrisch substituierte Dreifachbindungssysteme bei der Hydrierung empfindlich auf die Nachbarschaft einer freien Carboxylfunktion reagieren, soll hier die entsprechende Reaktion an einem Doppelbindungssystem untersucht werden. Da sich der Acrylsäureethylester als ein im Hinblick auf den Polarisationstransfer sehr geeignetes System erwiesen hat, soll an dieser Stelle das Verhalten der korrespondierenden freien Säure untersucht werden.

Für den Vergleich der analogen Reaktion bei Einsatz der freien Acrylsäure wurden gleiche Mengen des Substrats zur Umsetzung eingebracht. In Abbildung 8.4-3 ist zunächst das der Messreihe des Acrylsäureesters (Kap. 8.1) entsprechende ^1H -Spektrum der freien Acrylsäure gezeigt. Die Signale des Edukts im olefinischen Verschiebungsbereich sind neben den extrem verstärkten Polarisationsignalen kaum noch erkennbar.

Die Signale der übertragenen Protonen erscheinen in einem für ALTADENA-Experimente charakteristischen Aufspaltungsmuster. Nach einer Hydrierzeit von nur ca. 20 Sekunden kann damit von einer sehr guten Umsatzrate für das untersuchte System ausgegangen werden.

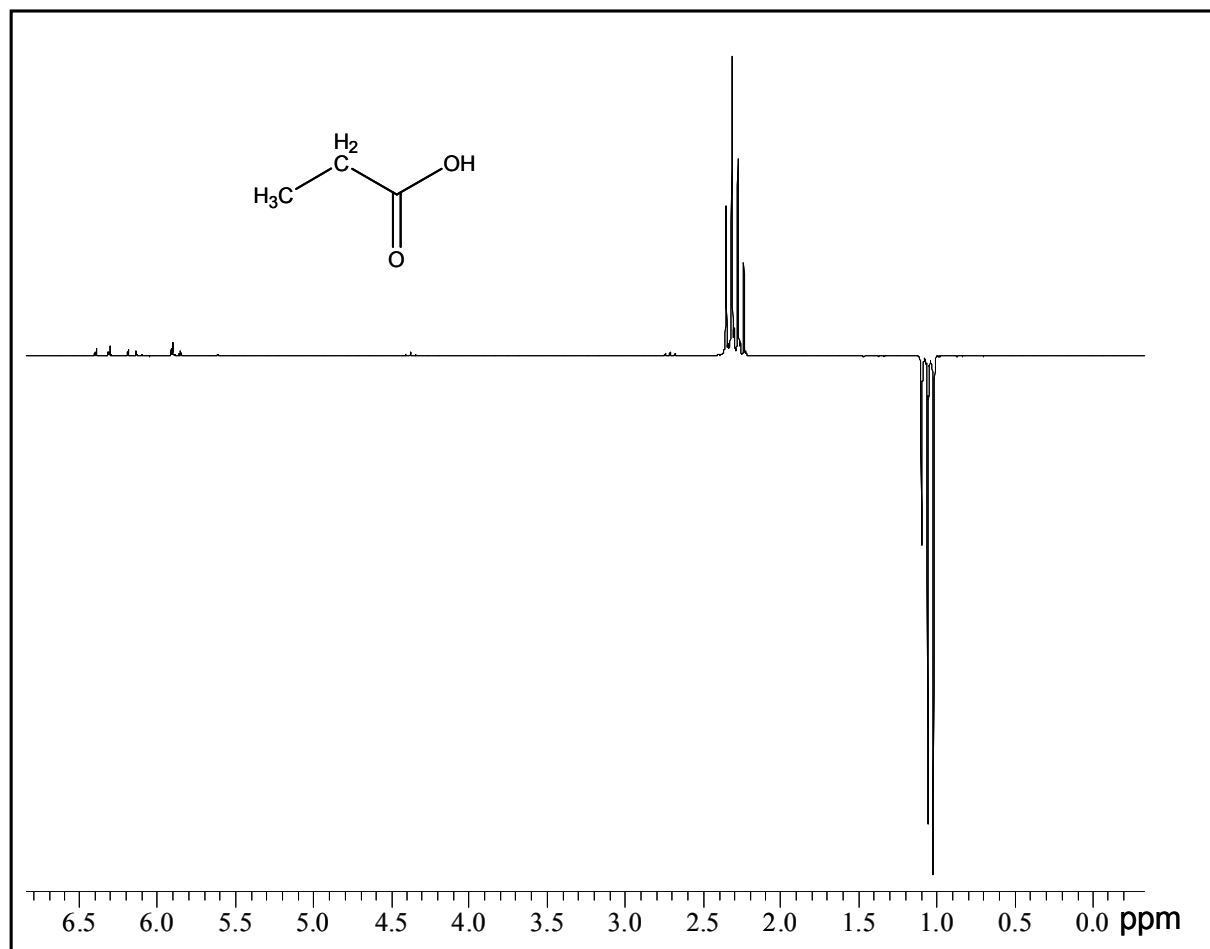


Abbildung 8.4-3: ^1H -Spektrum der Hydrierung von Acrylsäure

Im Hinblick auf die bisher besprochenen Experimente deutet diese Tatsache auf die Möglichkeit eines ausreichenden Transfers dieser starken Polarisation auf die ^{13}C -Kerne des Produktes hin. In Abbildung 8.4-4 ist das nach einer Hydrierzeit von ca. 40 Sekunden erhaltene ^{13}C -Spektrum der durchgeführten Messreihe mit der Struktur des Hydrierproduktes abgebildet. Es ist deutlich zu erkennen, dass ein ausreichender Transfer der Polarisation stattgefunden hat. Die deutlichen Antiphasensignale im aliphatischen Verschiebungsbereich entsprechen der Methylengruppe bei 26.9 ppm und der Methylgruppe bei 8.8 ppm.

Die $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen führen zu einer Triplettaufspaltung mit 122 Hz für die Methylen- und 128 Hz für die Methylgruppe. Auch die entsprechenden $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen sind mit jeweils 4.5 Hz noch gut aufgelöst und führen zu einer weiteren Antiphasenauflösung dieser Signale. Besonders bemerkenswert ist das Signal des ^{13}C -Kerns der freien Carboxylfunktion bei einer Verschiebung von 175.6 ppm, das mit guter Intensität detektiert werden kann.

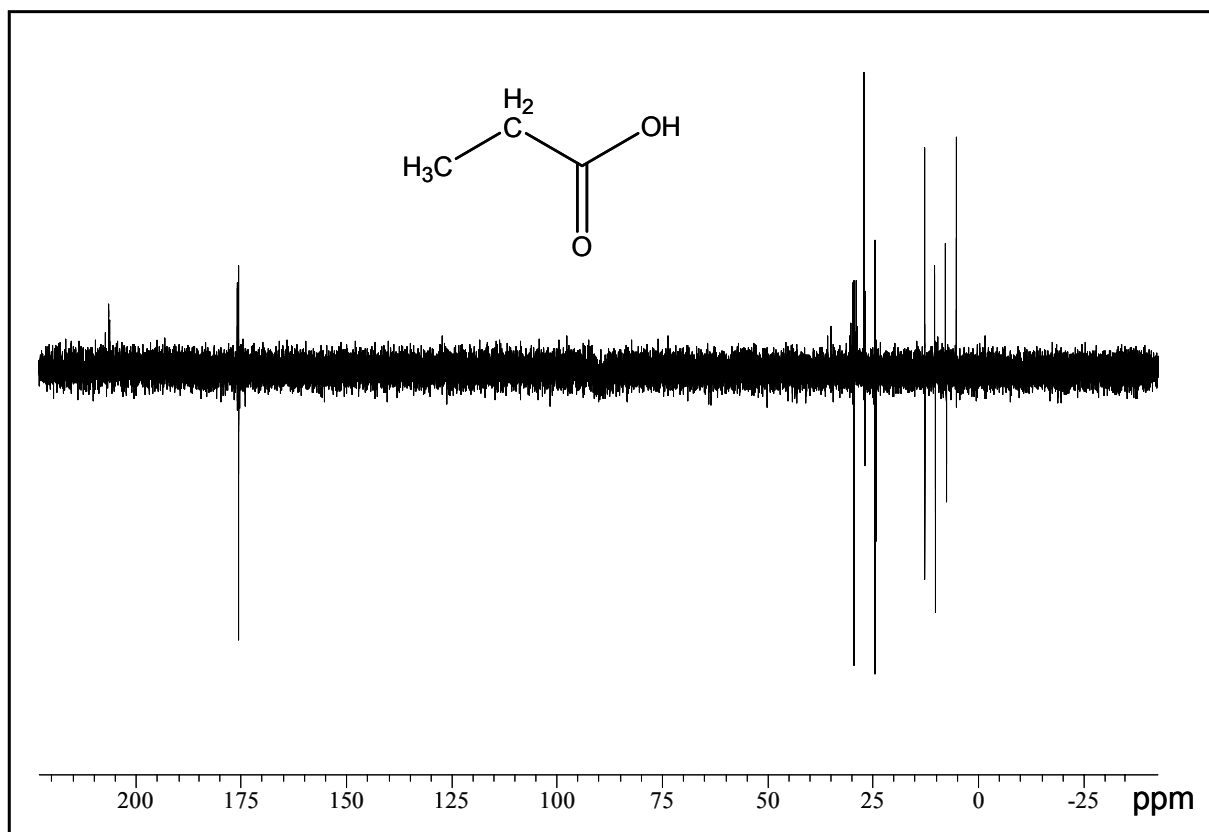


Abbildung 8.4-4: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von Acrylsäure

Durch das hier geschilderte Experiment kann so erstmalig der erfolgreiche PHIP-Transfer auf den ^{13}C -Kern einer freien Carboxylfunktion nachgewiesen werden. Durch den Beweis einer möglichen magnetischen Markierung dieser Teilstruktur wird so der Zugang zu einem entsprechenden Transfer an zwei der interessantesten Targetstrukturen eröffnet. Sowohl die Valproinsäure als auch die Profene wie Ibuprofen oder Naproxen enthalten solche freien Carboxylfunktionen. Im folgenden Kapitel sollen daher weitere Teilstrukturen dieser Verbindungen gezielt untersucht werden.

8.5 Valproat- und Profenbausteine

Im vorangegangenen Kapitel konnte die erfolgreiche magnetische Markierung der freien Propionsäure vorgestellt werden. Bei dieser Verbindung handelt es sich bereits um einen Teilbaustein einiger in Kapitel 7 beschriebener Targetsysteme. An dieser Stelle sollen daher Verbindungen untersucht werden, die diesen Zielmolekülen strukturell weiter angenähert sind.

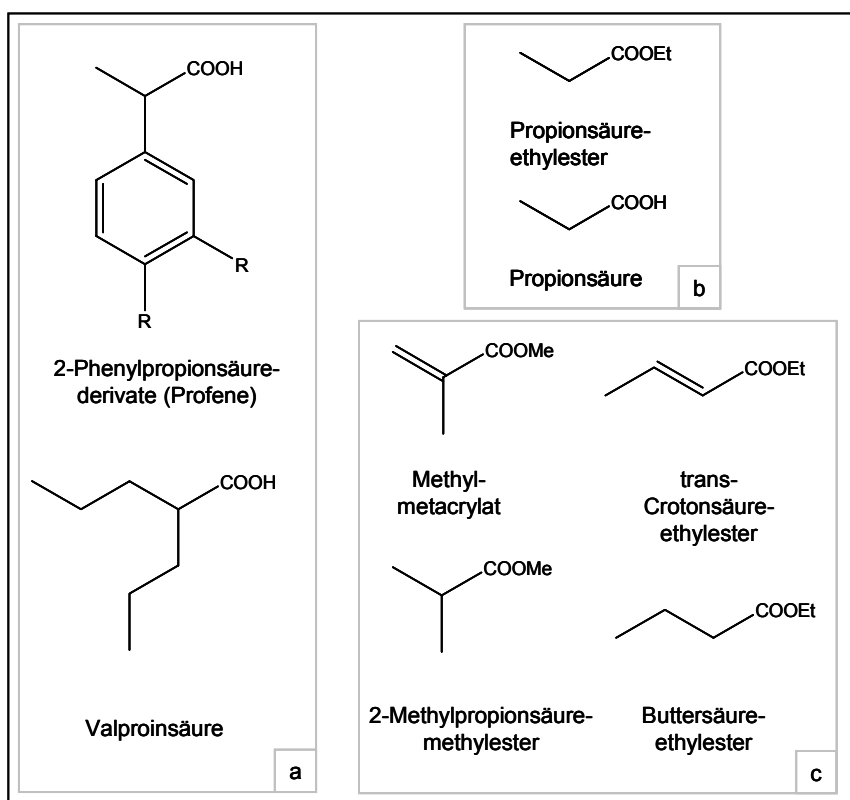


Abbildung 8.5-1: Strukturübersicht zum Vergleich ausgesuchter Targetsysteme (a) mit bereits erfolgreich markierten Systemen (b) sowie den in den folgenden Experimenten untersuchten Substanzen (c)

In Abbildung 8.5-1 sind die für die folgenden Experimente verwendeten Substrate mit den resultierenden Produktsystemen und den bereits erfolgreich markierten Strukturen den erwähnten Zielsubstanzen gegenübergestellt. Der Vergleich zeigt, dass sich die für die weiterführenden Untersuchungen ausgewählten Substanzen von den vorher beschriebenen Propionsäurederivaten lediglich durch die Anwesenheit einer zusätzlichen Methylgruppe unterscheiden.

Das Hydrierprodukt des Methylmetacrylats entspricht einem Teilbaustein beider Targetsysteme. Da für freie Carbonsäuren, wie im vorangegangenen Kapitel dargelegt wurde, kürzere Relaxationszeiten der resultierenden Signale und verringerte Umsatzraten erwartet werden, kommen an dieser Stelle die analogen Ester zum Einsatz.

Polarisationstransfer bei der Hydrierung von Methylmetacrylat

Zur Reaktion wurden, wie in den vorherigen Experimenten, 200×10^{-3} mmol des Substrats mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μ l Aceton- d_6 eingesetzt. In Abbildung 8.5-2 ist eines der aus der Messreihe erhaltenen ^1H -PHIP-Spektren inklusive der Signalzuordnungen dargestellt.

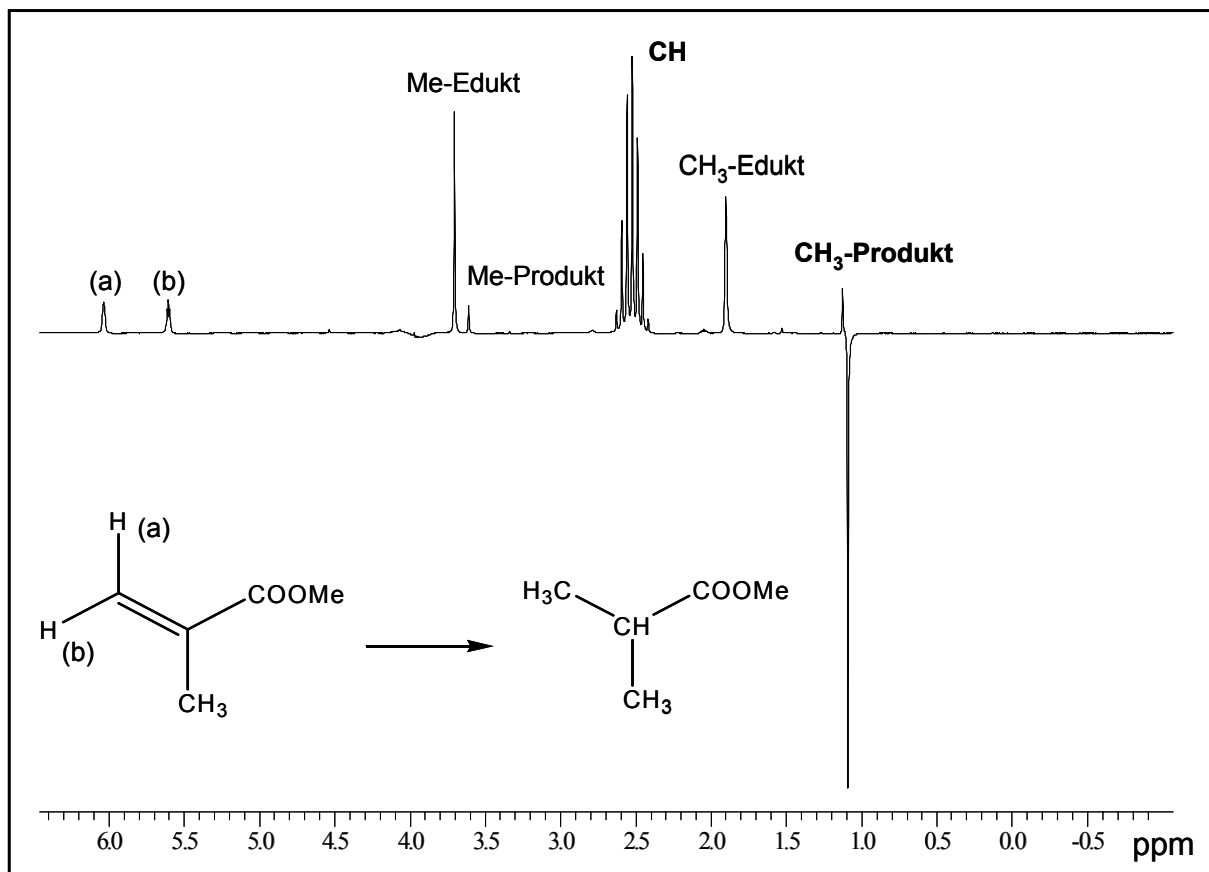


Abbildung 8.5-2: PHIP-Spektrum der Hydrierung von Methylmetacrylat

Dieses nach einer Hydrierzeit von ca. 50 Sekunden detektierte Protonenspektrum zeigt stark überhöhte Polarisationsignale für die übertragenen Parawasserstoffkerne. Die $^3J_{\text{HH}}$ -Kopplung beträgt 7 Hz.

Im zugehörigen ^{13}C -Spektrum wird ein Transfer dieser Polarisation durch schwache Signale im erwarteten Verschiebungsbereich angezeigt. Diese für eine Detektion fast unzureichende Signalüberhöhung für die ^{13}C -Kerne weist auf eine durch die zusätzliche Methylgruppe induzierte sterische Hinderung hin, die zu einer Verringerung der Umsatzrate führt. Die Umsatzrate bei homogen katalysierten Hydrierungen wird mitunter stark vom eingesetzten Lösungsmittel beeinflusst. Da sich bei analogen Reaktionen der Einsatz von Methanol als Lösungsmittel bereits bewährt hat, wird in einem weiteren Experiment untersucht, inwieweit der Einsatz dieses Reaktionsmediums zu einer Steigerung der Umsatzrate und damit zu einer verbesserten Detektierbarkeit der ^{13}C -Polarisationssignale führt. Zur Reaktion wurden gleiche Mengen an Substrat und Katalysator wie im vorangegangenen Experiment in 700 μl Methanol- d_4 eingesetzt. Das aus der analogen Messreihe nach ca. 50 Sekunden Hydrierzeit erhaltene ^{13}C -Spektrum ist mit der Struktur des Hydrierprodukts in Abbildung 8.5-3 dargestellt.

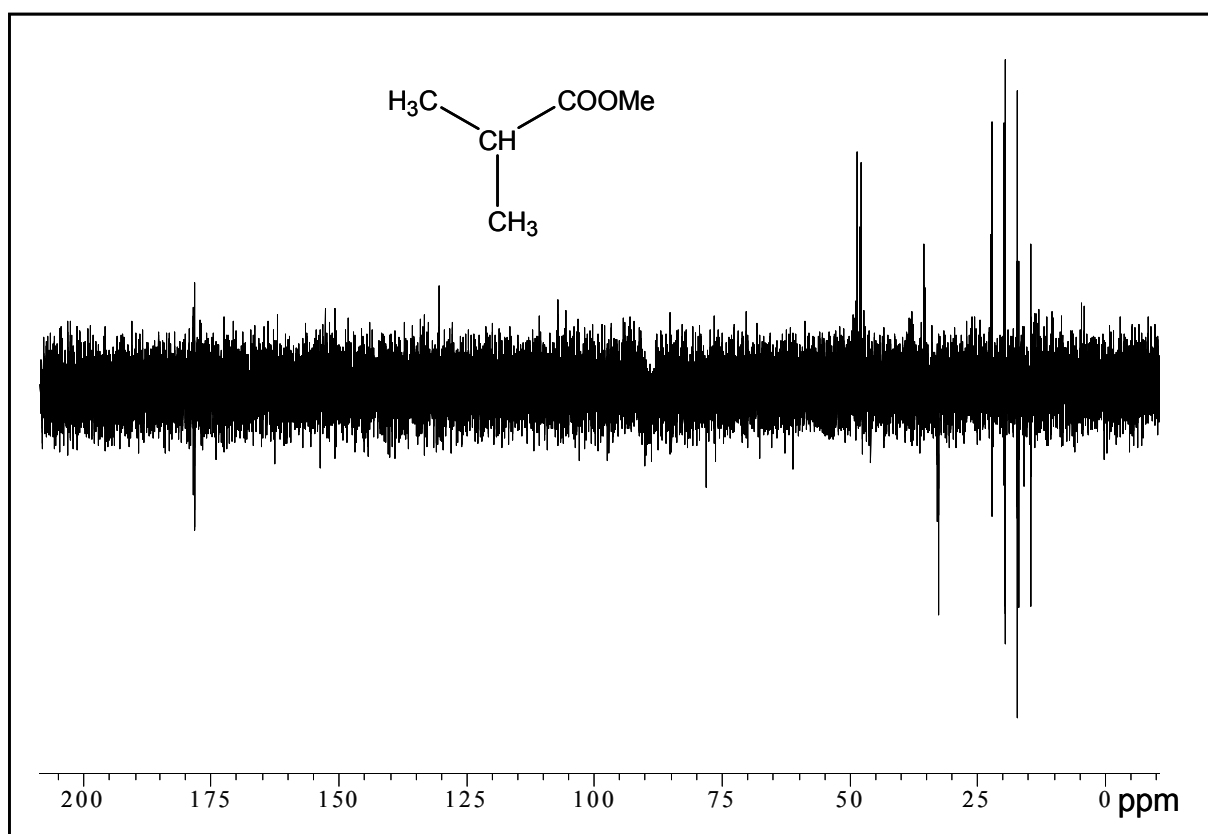


Abbildung 8.5-3: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von Methylmetacrylat in Methanol- d_4

In diesem Spektrum sind nun deutliche Polarisationssignale der entsprechenden ^{13}C -Kerne sichtbar.

Die Signale der Methylgruppen erscheinen bei einer Verschiebung von 18.3 ppm und zeigen eine Quartettaufspaltung mit einer $^1J_{CH}$ -Kopplungskonstanten von 130 Hz. Die $^3J_{CH}$ -Kopplungen zur jeweils benachbarten CH_3 -Gruppe führt zu einer weiteren Quartettaufspaltung mit einer 5 Hz Kopplung. Die $^2J_{CH}$ -Kopplung zum polarisierten Methinproton ist durch die Antiphasenkopplung mit ca. 1 Hz noch aufgelöst. Das Signal der Methingruppe erscheint bei einer Verschiebung von 34 ppm. Die $^1J_{CH}$ -Kopplung beträgt hier 134 Hz. Die weiteren $^2J_{CH}$ -Kopplungen zu den Methylprotonen betragen ca. 4 Hz. Auch das Carbonyl-C-Atom kann bei einer Verschiebung von 178 ppm noch gut detektiert werden. Offensichtlich führt der Einsatz von Methanol als Lösungsmittel zu einer gesteigerten Reaktionsrate und damit zu einem effektiveren Polarisationstransfer. Eine quantitative Untersuchung zu diesem Verhalten wird am Beispiel der Hydrierung von Acrylsäureethylester in Kapitel 9 vorgestellt.

An dieser Stelle kann die rein qualitative Feststellung gemacht werden, dass eine magnetische ^{13}C -Markierung eines in α -Position verzweigten Propionsäurederivats durchaus möglich ist. Durch eine weitere Steigerung der Hydrierrate, zum Beispiel durch Verwendung höherer Wasserstoffdrücke, kann damit die Möglichkeit einer entsprechenden Markierung der analog verzweigten Profene in Aussicht gestellt werden.

Untersuchung der Hydrierung von trans-Crotonsäureethylester

Der trans-Crotonsäureethylester unterscheidet sich von dem zuvor untersuchten System durch die Position des Methylsubstituenten. Die Hydrierung erfolgt hier nicht an einer endständigen, sondern an einer internen Doppelbindung. Im Hinblick auf eine erstrebte Markierung der Valproinsäure durch die Hydrierung der α,β -ungesättigten Vorstufe kommt diesem Experiment eine besondere Bedeutung zu.

Zur Reaktion wurden 200×10^{-3} mmol des Substrates mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μ l Aceton- d^6 eingesetzt. Das nach einer Hydrierzeit von 40 Sekunden aufgenommene Protonenspektrum ist in Abbildung 8.5-4 gezeigt.

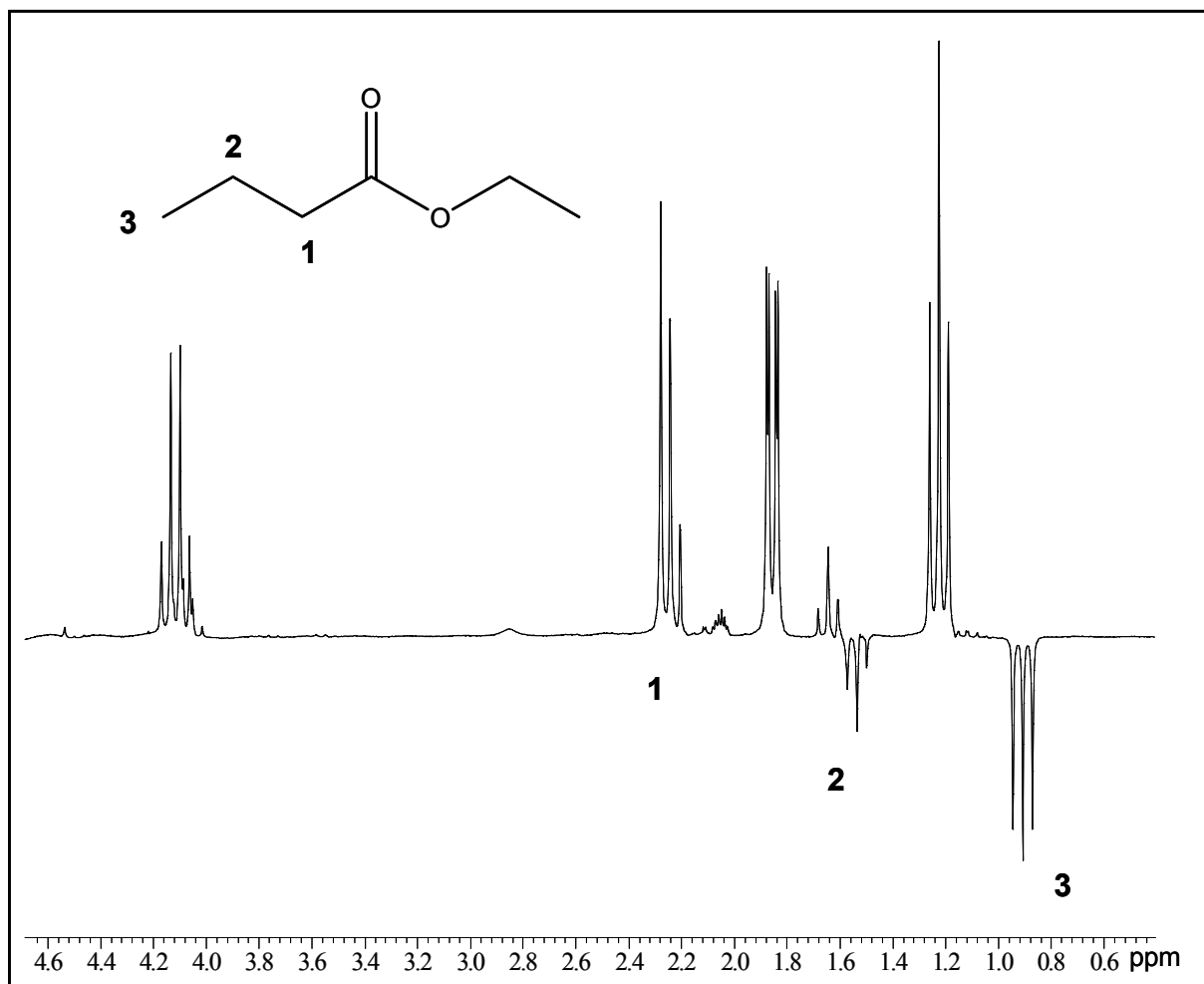


Abbildung 8.5-4: ^1H -PHIP-Spektrum der Hydrierung von *trans*-Crotonsäureethylester

Die durch die Hydrierung generierten Polarisationsignale sind analog der mit dem Spektrum abgebildeten Struktur des Hydrierprodukts mit den Ziffern 1 bis 3 gekennzeichnet. Zur deutlicheren Darstellung ist nur der aliphatische Verschiebungsbereich des Spektrums gezeigt. Es befinden sich zwei weitere Signale des Eduktes im olefinischen Verschiebungsbereich bei 5.8 und 6.9 ppm. Neben den Eduktsignalen der Estergruppe bei einer Verschiebung von 1.2 ppm und 4.1 ppm und der Methylgruppe bei 1.84 ppm sind drei dem Produkt zuzuordnende Polarisationsignale sichtbar. Gemäß der Hydrierposition sollte die Hauptpolarisation⁴ für die ^1H -Kerne in Stellung 1 und 2 zu detektieren sein. Im Spektrum kann jedoch ein starkes Emissionssignal für die benachbarte Methylgruppe registriert werden.

⁴ Durch den in Kapitel 5 beschriebenen NOE oder den Effekt des isotropen Mischens können noch weitere ^1H -Kerne des Produktsystems an der generierten Polarisation partizipieren

Sowohl die Phasenlage als auch die starke Intensität dieses Signals sprechen für einen direkten Transfer eines der übertragenen Parawasserstoffkerne in diese Position. Diese Beobachtung kann durch eine Umlagerung erklärt werden, die zu einem Intermediat führt, dessen Hydrierung das gleiche Produktspinsystem liefert. Die entsprechende Umlagerung ist in Abbildung 8.5-5 dargestellt.

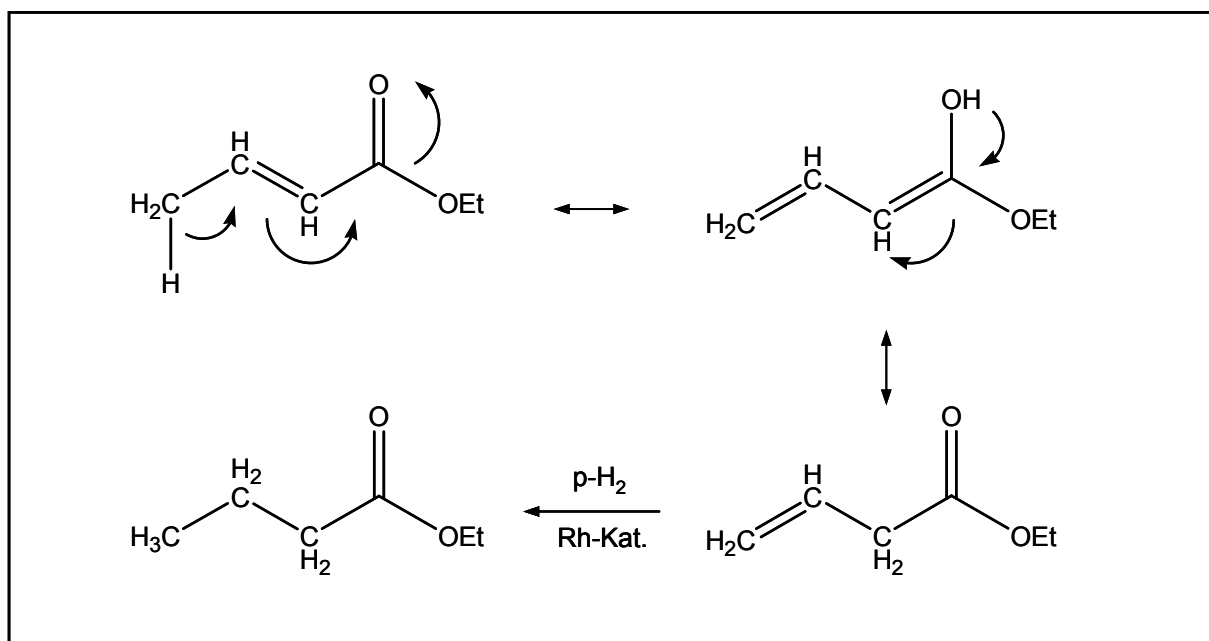


Abbildung 8.5-5: Schematische Darstellung einer der Hydrierreaktion vorgelagerten Umlagerung des trans-Crotonsäureethylesters über die Keto-Enol-Tautomerie

Diese als Keto-Enol-Tautomerie bezeichnete Form der Isomerie führt durch Verschiebung von σ - und π -Bindungen zum Auftreten zweier Verbindungen, die miteinander im Gleichgewicht stehen. Bei der α,β -ungesättigten Ausgangsverbindung handelt es sich um die thermodynamisch stabilere Form. Die durch Tautomerisierung entstehende Struktur ist jedoch durch eine für die Hydrierung leichter zugängliche endständige Doppelbindung gekennzeichnet, was das Auftreten von Polarisationsignalen in diesen Positionen erklärt. Anhand dieses Beispiels wird erneut verdeutlicht, wie durch den Einsatz der PHIP-Methode Rückschlüsse auf den Reaktionsablauf gezogen werden können, die in der Standard-NMR-Spektroskopie nicht möglich sind.

Betrachtet man nun die Intensität der detektierten Polarisationsignale (Spektrum b) in Abbildung 8.5-6) im Vergleich zu den im Anschluss detektierten thermischen Produktsignalen (Spektrum a) in Abbildung 8.5-6), so zeigt sich, dass die übertragenen Protonen keine große Signalüberhöhung aufweisen.

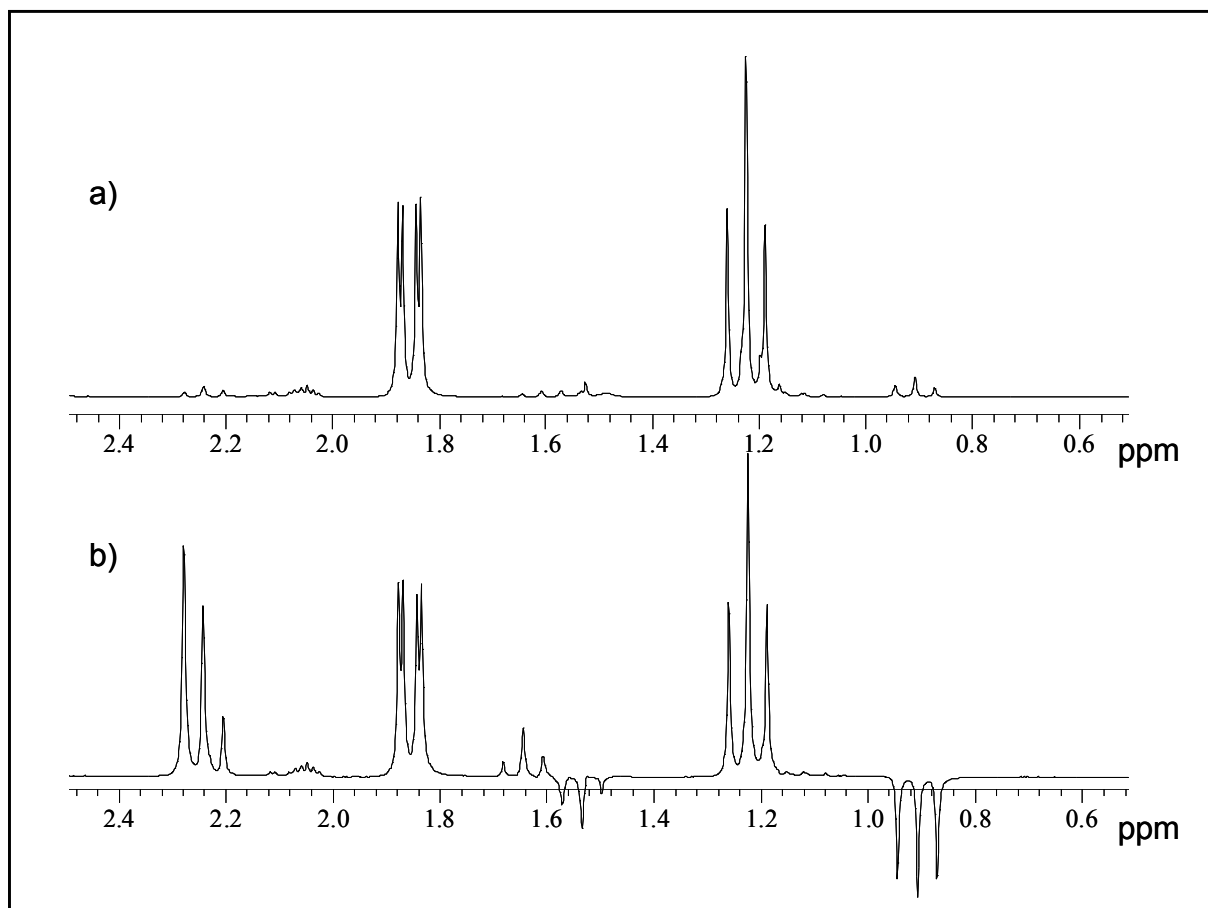


Abbildung 8.5-6: *Vergleich des thermischen Spektrums a) mit dem PHIP-Spektrum b) der Hydrierung von Crotonsäureethylester*

Dies ist ein Indiz für eine verminderte Umsatzrate bei der Hydrierung dieses Systems. Es ist daher auch nicht verwunderlich, dass die Detektion entsprechender Signale für die ^{13}C -Kerne des Produktsystems zu keinem positiven Ergebnis führt. Möchte man durch Hydrierung einer geeigneten Vorstufe zu einer magnetischen Markierung eines Valproat-analogen Bausteins gelangen, muss daher ein anderer Weg beschritten werden.

Polarisationstransfer bei der Hydrierung von 4-Pentinsäure

In den vorangegangenen Experimenten haben sich bestimmte Faktoren für eine erfolgreiche Beobachtung des untersuchten Effektes als förderlich oder hinderlich erwiesen.

- a) Die Hydrierung von Dreifach- zu Doppelbindungen mit Parawasserstoff führt zu einem ausgesprochen effektiven Transfer der Polarisation auf die ^{13}C -Kerne des Produktspinsystems (Kap. 8.1).
- b) Die Anwesenheit einer freien Carboxylfunktion in Nachbarschaft zu einer Alkingruppe führt zum Ausbleiben der angestrebten Polarisationssignale.
- c) Der Polarisationstransfer ist stark abhängig von der Umsatzrate der Hydrierreaktion und damit vom Einfluss sterischer Faktoren.
- d) Das Produktspinsystem sollte eine gewisse Größe nicht überschreiten.

Berücksichtigt man nun die Tatsache, dass ein Transfer der Polarisation auf eine freie Carboxylfunktion grundsätzlich möglich ist (Kap. 8.4), so stellt sich die Frage, inwieweit allein die räumliche Nähe dieser Gruppierung zum Hydrierzentrum bei Alkinen die entscheidende Rolle spielt.

Im folgenden Experiment sollen nun alle genannten Faktoren berücksichtigt werden. Die 4-Pentinsäure verfügt über eine sterisch wenig gehinderte Dreifachbindung, die mit einer hohen Umsatzrate zur Pentensäure umgesetzt werden kann und eine deutliche Entfernung zur Carboxylgruppe aufweist. Zur Reaktion wurden 143×10^{-3} mmol der Verbindung mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Bereits zu Beginn der Reaktion zeigen intensive Polarisationssignale auf dem ^1H -Kanal eine schnelle und effektive Umsetzung des verwendeten Substrates an. Das in Abbildung 8.5-7 gezeigte ^{13}C -PHIP-Spektrum konnte nach einer Hydrierzeit von nur 20 Sekunden erhalten werden.

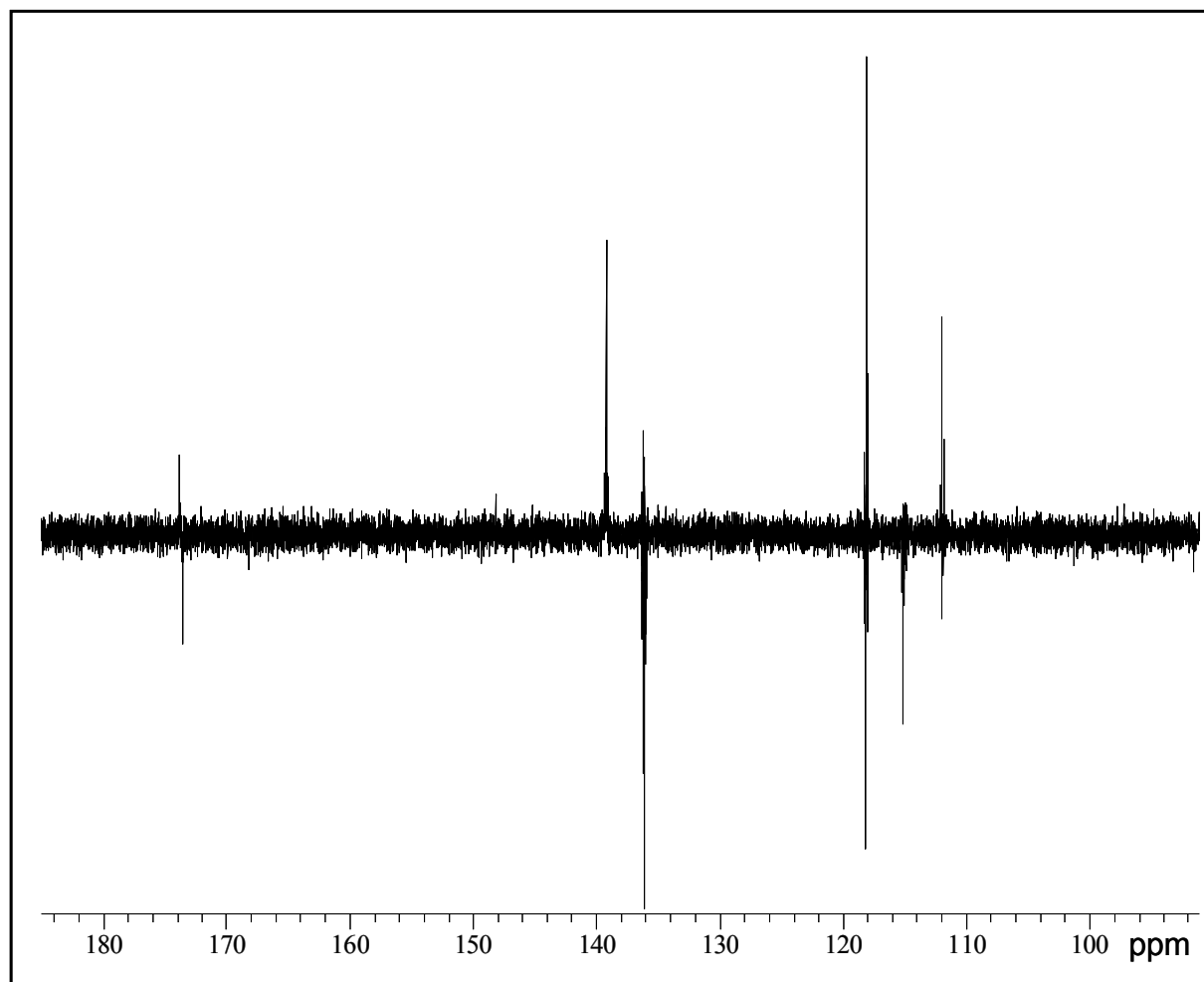


Abbildung 8.5-7: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von 4-Pentinsäure

Abgesehen von schwachen Polarisationsignalen im aliphatischen Verschiebungsbereich, die in diesem Ausschnitt nicht gezeigt sind, zeigen die starken Antiphasensignale der Methylen- und Methingruppe des Produktsystems im olefinischen Bereich ein gutes Gelingen des angestrebten Transfers an. Das Signal der Methylengruppe bei einer Verschiebung von 115 ppm zeigt die erwartete Triplettaufspaltung mit einer $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplungskonstanten von 153 Hz. Die Methingruppe liefert ein Dublett mit einer Aufspaltung von 155 Hz bei einer Verschiebung von 138 ppm. Beide Signale zeigen weitere Kopplungen zu den benachbarten Protonen, die jedoch durch ihre Vielzahl zu Überlagerungen führen und daher schlecht zugeordnet werden können. Die wichtigste Feststellung in diesem Zusammenhang ist jedoch die Tatsache, dass die Polarisation offensichtlich über die gesamte Alkankette hinweg bis hin auf die freie Carboxylfunktion übertragen wird, die ein deutliches Antiphasensignal bei einer Verschiebung von 174 ppm liefert.

Dieses Ergebnis beweist, dass der Polarisationstransfer durch Berücksichtigung der oben genannten Faktoren durchaus gesteuert werden kann. Die auf diesem Wege erfolgreich magnetisch markierte 4-Pentensäure unterscheidet sich strukturell nur noch geringfügig von der Valproinsäure, die auch als 2-Propyl-pentansäure bezeichnet werden kann. Die zusätzliche Verzweigung in der α -Position dieser Verbindung sollte bei Anwendung der analogen Strategie keinen wesentlichen Einfluss auf die Hydrierrate haben. Durch Hydrierung der 2-Propyl-4-pentinsäure sollte man damit ein der Valproinsäure fast identisches ^{13}C -polarisiertes Substrat erhalten, das sich von diesem Targetsystem lediglich durch die verbleibende Doppelbindung unterscheidet.

In einem weiteren Experiment wurde daher die analoge Reaktion bei Verwendung der 4-Pentensäure untersucht. Erwartungsgemäß ist jedoch die Umsatzrate bei der Hydrierung einfacher Alkene nicht sehr hoch, was sich wiederum in wenig verstärkten Polarisationsignalen in den zugehörigen ^1H -PHIP-Spektren widerspiegelt. In den entsprechenden ^{13}C -Spektren sind daher keinerlei Polarisations Signale detektierbar. Da dieses Verhalten in erster Linie auf die verlangsamte Umsetzung zurückzuführen ist, sollte die Hydrierung der entsprechenden Valproatvorstufe auch bei Einsatz einer Alkenvorstufe durch Verwendung höherer Wasserstoffdrücke bei erhöhter Temperatur gelingen.

Da bei der Vielzahl der in der Medizin eingesetzten Antiepileptika aber durchaus auch ungesättigte Verbindungen vorkommen, könnte der hier aufgezeigte Weg zur Markierung über die Hydrierung der Dreifachbindung zu einem Substrat mit analoger Wirksamkeit führen.

Die Signalverstärkung

Besonders für eine Anwendung des untersuchten Verfahrens in der medizinischen Diagnostik spielt der im Experiment erzielte Überhöhungsfaktor der detektierten Signale eine wichtige Rolle. Die Signalüberhöhung ($\text{SE} = \text{Signal Enhancement}$) vermindert die Anzahl der benötigten Einzelaufnahmen thermischer Spektren (n), die nötig sind, um analoge Signalintensitäten zu erhalten. In der Standard-NMR-Spektroskopie gelingt die Detektion von ^{13}C -Signalen nur durch Akkumulation einer Vielzahl von Aufnahmen, wobei man eine Verbesserung des Signal/Rauschen-Verhältnisses um einen Faktor \sqrt{n} erzielt.

Die erzielte Signalverstärkung für ein gegebenes Experiment wird im Folgenden durch den Vergleich mit dem thermischen Spektrum derselben Reaktionsmischung bestimmt.

Das ermittelte Signal/Rausch-Verhältnis des intensitätsstärksten Polarisationsignals wird mit dem entsprechenden thermischen Signal unter Berücksichtigung der Anzahl akkumulierter Scans ins Verhältnis gesetzt.

Beispiel: In einem ^{13}C -Experiment wird ein Signal/Rausch-Verhältnis(S/N-Verhältnis) von 50 für ein ausgesuchtes Polarisationsignal ermittelt. Das thermische Spektrum liefert für das gleiche Signal ein S/N-Verhältnis von 5 durch Akkumulation von 1849 Spektren. Daraus ergibt sich für diesen Fall eine Signalverstärkung von 430.

Für den durch Hydrierung von 4-Pentinsäure erhaltenen Valproatbaustein kann so ein Verstärkungsfaktor von 350 ermittelt werden. Das bedeutet im Umkehrschluss, dass im Standardexperiment 12.3×10^4 Spektren akkumuliert werden müssten, um zu einem analogen S/N-Verhältnis zu gelangen, was bei einem Relaxationsdelay von nur 3 Sekunden zwischen den Einzelaufnahmen einer Messzeit von mehr als vier Tagen entsprechen würde.

Um die Signalverstärkung von Protonenspektren korrekt ermitteln zu können, muss im Gegensatz zu den ^{13}C -Spektren beachtet werden, dass bei der Detektion von ^1H -PHIP-Spektren aufgrund der immensen Signalintensitäten mit veränderten Spektrometereinstellungen gearbeitet werden muss. Eine unterschiedliche Leistung des Signalverstärkers führt beispielsweise zu einer Veränderung des S/N-Verhältnisses der detektierten Signale. Ein direkter Vergleich der Signalintensitäten aus den im thermischen und im PHIP-Spektrum erhaltenen Signale über das S/N-Verhältnis gelingt daher nur durch Einbeziehung eines fixen Referenzsignals, zum Beispiel dem des eingesetzten Lösungsmittels.

Polarisationstransfer bei der Hydrierung der 5-Hexinsäure

Da der Transfer der Polarisation über eine Alkankette hinweg bis zu einem Kern mit langer Relaxationszeit einen grundsätzlich viel versprechenden Ansatz zur magnetischen Markierung anderer Substrate darstellt, wurde in einem weiteren Experiment getestet, wo die Grenze dieser Methode liegt. Zu diesem Zweck wurde die 5-Hexinsäure unter gleichen Bedingungen wie die 4-Pentinsäure umgesetzt. Das intensitätsstärkste ^{13}C -Spektrum der Messreihe ist in Abbildung 8.5-8 dargestellt.

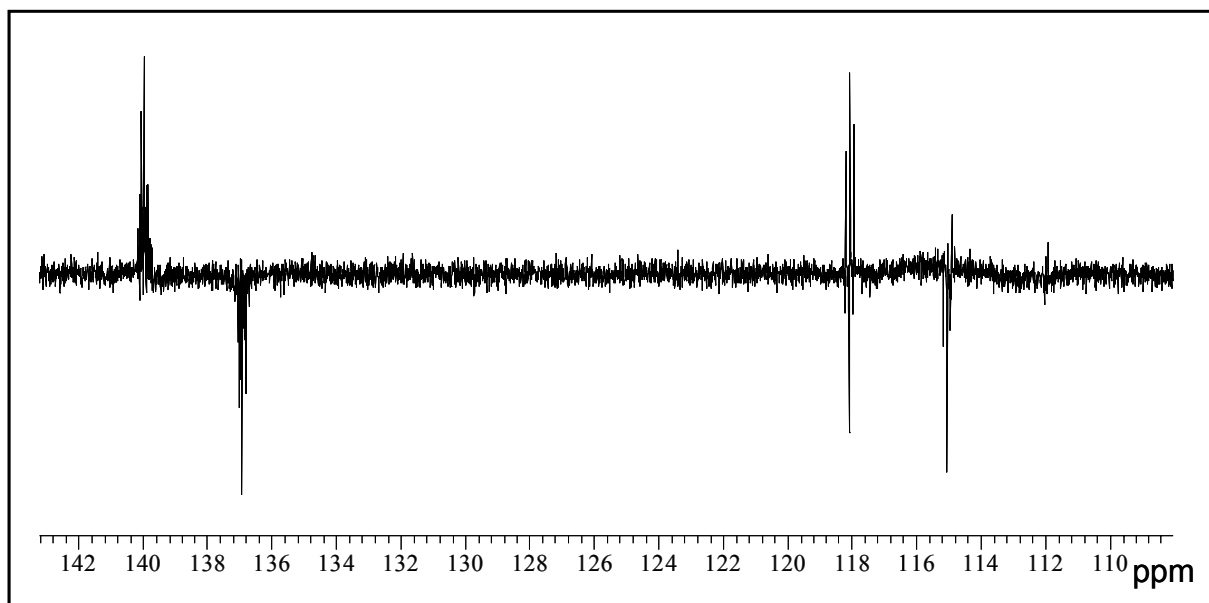


Abbildung 8.5-8: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung von 5-Hexinsäure

Im Spektrum sind deutliche Polarisationsignale der direkt an die übertragenen Parawasserstoffkerne gebundenen ^{13}C -Kerne zu erkennen. Das Methin-Dublett erscheint bei einer Verschiebung von 138 ppm mit einer $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplungskonstanten von 153 Hz und das Triplet der Methylengruppe kann bei einer Verschiebung von 115 ppm mit einer $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplung von 152 Hz beobachtet werden. Auch in diesem Experiment werden sehr schwache Signale im aliphatischen Verschiebungsbereich registriert. Ein Polarisationstransfer auf die endständige Carboxylgruppe kann jedoch nicht nachgewiesen werden. Die anhand der Hydrierung der 4-Pentinsäure geschilderte Methode zum Polarisationstransfer auf freie Carboxylgruppen ist also auf eine Kettenlänge von bis zu fünf C-Atomen beschränkt.

8.6 Ether

Unter den in Kapitel 7 aufgeführten Targetsystemen finden sich verschiedene Etherderivate, die als Inhalationsnarkotika Anwendung finden. In den vorangegangenen Untersuchungen konnte ein positiver Einfluss von elektronenziehenden Substituenten an der bei der Hydrierung umgesetzten Mehrfachbindung auf den beobachteten Polarisationstransfer festgestellt werden.

Der für die Verbindungsklasse der Ether charakteristische, zwei Alkylgruppen verknüpfende Sauerstoff bewirkt auf eine benachbarte Mehrfachbindung sowohl einen $-I$ -, als auch einen $+M$ -Effekt. Durch Einwirkung einer solchen Gruppierung werden folglich auch die Ligandeneigenschaften der Mehrfachbindung und damit die Umsatzrate bei der Hydrierung beeinflusst. Im den folgenden Experimenten sollen daher zunächst zwei strukturell analoge Ether auf ihr Verhalten bezüglich des Polarisationstransfers untersucht werden, die sich ausschließlich durch die bei der Hydrierung umgesetzte Mehrfachbindung unterscheiden.

Zum Vergleich wurden analoge PHIP-Experimente mit dem Ethinylethylether und dem Ethylvinylether durchgeführt. Die entsprechenden Reaktionen sind in Abbildung 8.6-1 skizziert.

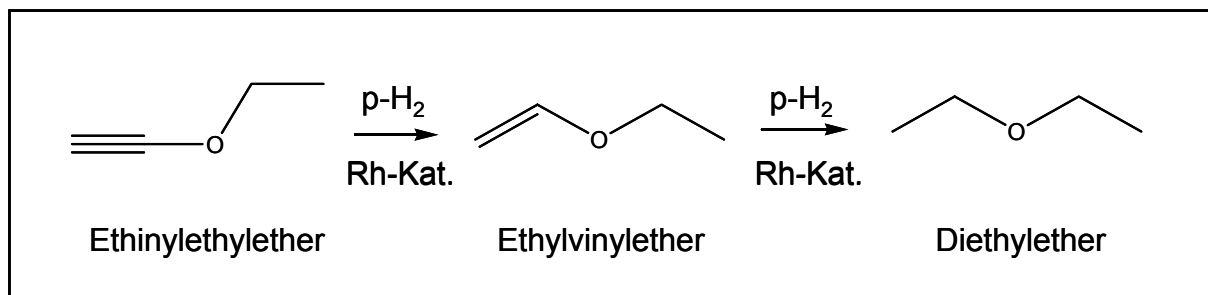


Abbildung 8.6-1: Darstellung der Hydrierreaktionen von Ethinylethyl- und Ethylvinylether

Um gleiche Startbedingungen zu gewährleisten, wird der Ethylvinylether, der auch durch die Hydrierung des Ethinylethylethers entsteht, in einem zweiten Experiment mit gleicher Ausgangskonzentration eingesetzt. Grundsätzlich könnten beide Experimente aus ein und demselben Ansatz durch schrittweise Weiterhydrierung durchgeführt werden. In zahlreichen Experimenten wurde jedoch die Erfahrung gemacht, dass die Aktivität des eingesetzten Katalysators nach mehreren Hydrierschritten nachlässt. Für das Vergleichsexperiment wurden also zwei analoge Reaktionslösungen mit je 400×10^{-3} mmol des Ethers mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μ l Aceton- d_6 eingesetzt.

Im Falle des Ethinylethylethers konnten auch nach mehreren Hydrierversuchen nur schwache Polarisations-signale in den zugehörigen 1H -Spektren detektiert werden.

Dies spricht für eine deutliche Herabsetzung der Hydrierrate bei der Umsetzung der Dreifachbindung durch die Nachbarschaft des Ethersauerstoffs. In den entsprechenden ^{13}C -Spektren treten demzufolge keinerlei Polarisationsignale in Erscheinung.

Das analoge Experiment mit Einsatz der olefinischen Ausgangsverbindung zeigt jedoch ein völlig anderes Ergebnis.

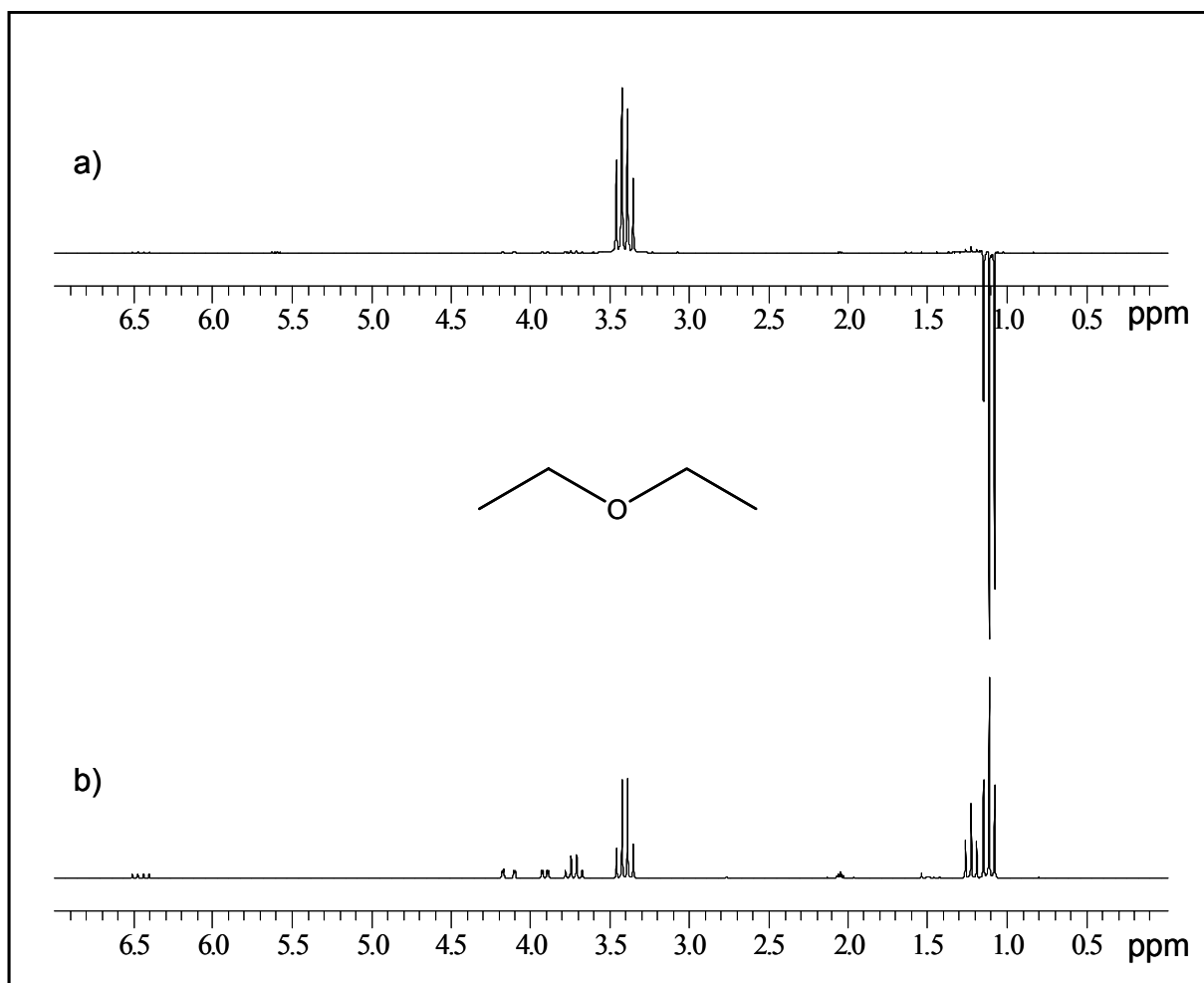


Abbildung 8.6-2: ^1H -Spektren der Hydrierung von Ethylvinylether nach einer Hydrierzeit von 30 Sekunden: a) PHIP-Spektrum, b) thermisches Spektrum

Bereits nach einer Hydrierzeit von 30 Sekunden wird durch intensive Polarisationsignale auf dem ^1H -Kanal die rasche und effektive Umsetzung der Verbindung angezeigt. Das PHIP-Spektrum ist mit dem zugehörigen thermischen Spektrum und der Struktur des Hydrierproduktes in Abbildung 8.6-2 dargestellt.

Die Eduktsignale der olefinischen Protonen bei Verschiebungen von 6.5 ppm, 4.1 ppm und 3.9 ppm, sowie die Signale der Ethylgruppe bei 3.7 ppm und 1.2 ppm sind im thermischen Spektrum b) noch deutlich erkennbar. Die entsprechenden Signale des entstandenen Diethylethers erscheinen bei einer Verschiebung von 3.39 ppm (CH_2) und 1.11 ppm (CH_3) mit einer $^3J_{\text{HH}}$ -Kopplung von 7 Hz und weisen anhand der Intensität im Vergleich zu den Eduktsignalen auf eine fortgeschrittene Umsetzung zu diesem Zeitpunkt hin. Im zugehörigen PHIP-Spektrum a) der Abbildung 8.6-2 sind ausschließlich diese Produktsignale in starker Überhöhung sichtbar.

Durch den Vergleich der in den gezeigten Spektren erhaltenen, auf das Lösungsmittelsignal referenzierten Signalintensitäten (Kap. 8.5.) ergibt sich für dieses System ein Signalverstärkungsfaktor von 112 für die übertragenen Protonen.

Die gute Umsatzrate und die effektive Signalverstärkung, die im Protonenkanal registriert werden, stellen einen gut detektierbaren Transfer der Polarisation auf die ^{13}C -Kerne dieses Hydrierproduktes in Aussicht.

Das den gezeigten ^1H -Spektren analoge ^{13}C -PHIP-Spektrum ist in Abbildung 8.6-3 wiedergegeben. Die Antiphasensignale in einem für die entsprechenden Gruppierungen erwarteten Verschiebungsbereich können eindeutig dem spinpolarisierten Diethylether zugeordnet werden. Das Triplett des ^{13}C -Kerns der CH_2 -Gruppe bei einer Verschiebung von 65.6 ppm weist eine $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplung von 136 Hz auf. Das Antiphasenquartett bei 14.8 ppm kann mit einer $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplung von 127 Hz der CH_3 -Gruppe zugeschrieben werden. Bei diesem Diethylether handelt es sich um ein unter den Targetsystemen bereits vorgestelltes, ausgesprochen wirksames Anaesthetikum. Anhand dieses Experimentes kann damit erstmalig die erfolgreiche magnetische Markierung eines physiologisch aktiven Substrats mit Hilfe der PHIP-Methode auf dem ^{13}C -Kanal dokumentiert werden.

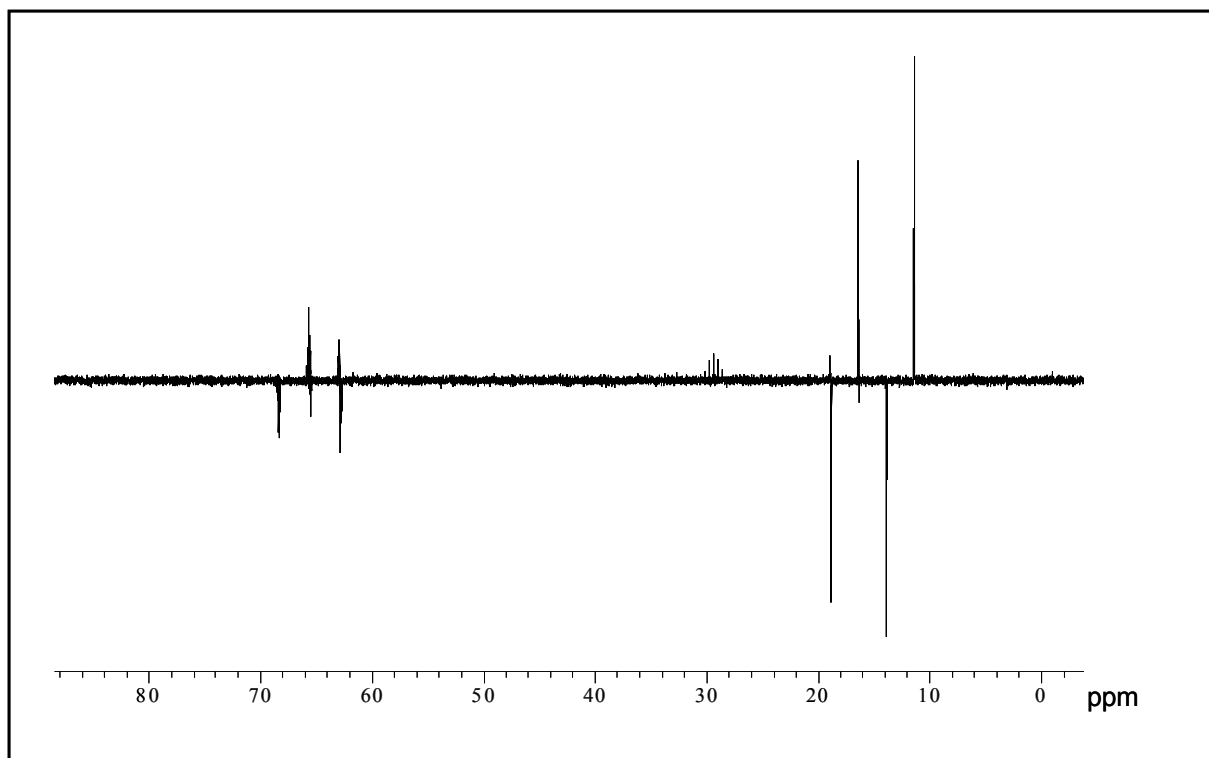


Abbildung 8.6-3: ^{13}C -Spektrum des spinpolarisierten Diethylethers

Für das gezeigte ^{13}C -Spektrum konnte ein Signalverstärkungsfaktor von 500 ermittelt werden. Der Vergleich mit dem für die Protonen erhaltenen Verstärkungsfaktor zeigt auch hier den großen Vorteil der günstigeren Relaxationszeiten für diese Kernsorte. Die Tatsache, dass im analogen Experiment bei der Hydrierung des Ethinylethylethers kein gleichwertiges Ergebnis erzielt werden konnte, zeigt, welche entscheidende Rolle die Umsatzrate bei diesen Experimenten spielt. Die Hydrierwärmen bei der Umsetzung von Alkinen sind in der Regel größer als bei analogen Doppelbindungssystemen. Entsprechend hat sich der Einsatz von Dreifachbindungssystemen in fast allen vorangegangenen Experimenten für die Erzeugung spinpolarisierter Moleküle durch die hohen Umsatzraten auch als ausgesprochen günstig erwiesen. Die vermutlich verminderte Umsatzrate durch Anwesenheit bestimmter Substituenten, wie zum Beispiel des Ethersauerstoffs, kann nur auf die veränderten Ligandeneigenschaften dieser Systeme zurückzuführen sein. Diese Eigenschaften spielen eine große Rolle bei der für die Umsetzung notwendigen Koordination des Substrats am Übergangsmetallzentrum. So kann sich der gleiche Substituent auf die Umsetzung von Alkenen im Vergleich mit Alkinen in verschiedener Weise auswirken.

Erzeugung spinpolarisierter, fluorierter Ether

Unter den in Kapitel 7 aufgeführten Inhalationsanaesthetika finden sich neben dem Diethylether auch eine Vielzahl fluorierter Ether, die heute in der Narkosemedizin ihren Einsatz finden. Die guten Ergebnisse, die für die Umsetzung des Ethylvinylethers erzielt werden konnten, werfen die Frage nach dem Verhalten analoger fluorierter Verbindungen auf. Da ein entsprechender, fluorierter Ethylvinylether käuflich nicht zugänglich war, wurde für das folgende Experiment der Allyl-2,2,3,3,3-pentafluorpropylether verwendet.

Zur Hydrierung wurden 100×10^{-3} mmol der Verbindung mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μ l Aceton- d_6 eingesetzt. In Abbildung 8.6-4 ist das nach einer Hydrierzeit von 30 Sekunden erhaltene PHIP-Spektrum der Protonen mit der Struktur des eingesetzten Ethers und des Hydrierproduktes den zugehörigen thermischen Spektren vor und nach der Hydrierung gegenübergestellt. Die Positionen der übertragenen Atome des Parawasserstoffs sind an der Struktur des Hydrierproduktes mit * gekennzeichnet. Anhand der Gegenüberstellung mit dem thermischen Spektrum des eingesetzten Ethers lassen sich die Signale des Hydrierproduktes gut von denen des Edukts unterscheiden. Die in die gekennzeichneten Positionen übertragenen Parawasserstoffkerne (Spektrum b)) zeigen ein Multiplett bei einer Verschiebung von 1.6 ppm und ein Triplet bei 0.9 ppm. Das Pseudosextett der Methylengruppe ist zum einen durch die Kopplung zur benachbarten Methylgruppe und zum anderen zur sauerstoffverknüpften Methylengruppe aufgespalten. Die $^3J_{HH}$ -Kopplungskonstante beträgt hier 7.4 Hz. Das Signal der Methylgruppe erscheint ausschließlich in Emission und zeigt durch den Vergleich mit dem entsprechenden Signal des thermischen Spektrums c), dass die Reaktion zu keiner sehr großen Signalüberhöhung auf dem 1H -Kanal führt. Für die Signalverstärkung wurde der Faktor 16 ermittelt.

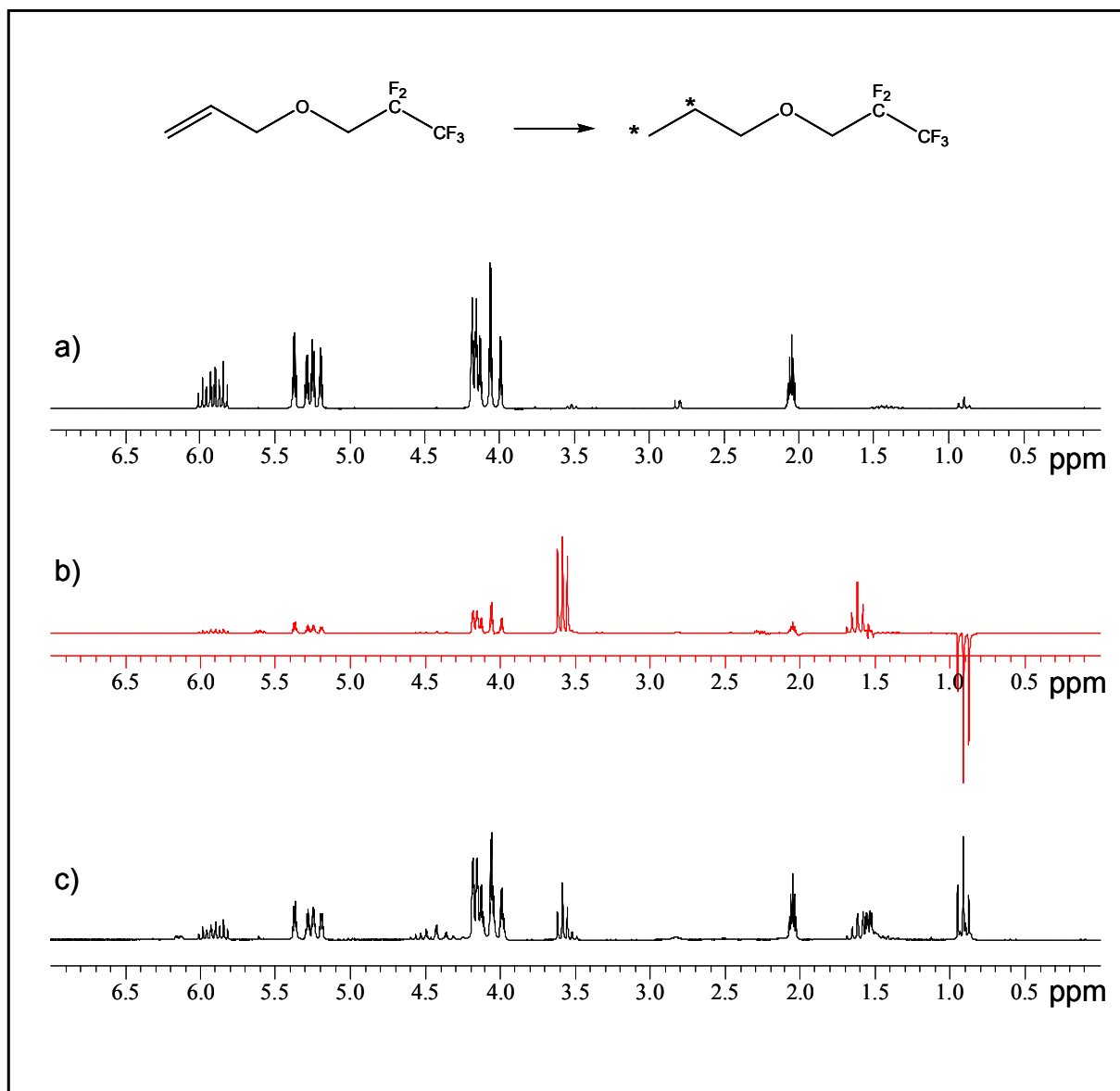


Abbildung 8.6-4: ¹H-Spektren der Hydrierung des Allyl-2,2,3,3,3-pentafluorpropylethers
a) thermisches Spektrum vor der Hydrierung
b) PHIP-Spektrum
c) thermisches Spektrum nach der Hydrierung

Auffällig ist hier das Signal der Methylengruppe in Nachbarschaft zum Hydrierzentrum bei einer Verschiebung von 3.6 ppm. Mit einer ermittelten Signalverstärkung von 10 für dieses Signal wird hier ein deutlicher Transfer der Polarisation auf diese Gruppierung angezeigt. Für einen solchen Transfer kommen zwei verschiedene, bereits geschilderte Mechanismen in Frage, die sich durch eine wesentliche Abhängigkeit unterscheiden.

Der Effekt des isotropen Mischens kann nur dann Auftreten, wenn durch Hydrierung außerhalb des Spektrometerfeldes ein stark gekoppeltes Spinsystem gewährleistet ist, in dem alle Protonen die gleiche chemische Verschiebung besitzen. Ein Polarisationstransfer über den Kern-Overhauser-Effekt hängt in erster Linie vom räumlichen Abstand der beteiligten Kerne ab. Um zu überprüfen, welcher der Transfermechanismen für die Überhöhung dieses Signals verantwortlich ist, wurde das gleiche Experiment unter PASADENA-Bedingungen, also mit Hydrierung der Probe innerhalb des Spektrometers durchgeführt. Das aus dieser Messreihe nach gleicher Hydrierzeit erhaltene PHIP-Spektrum ist in Abbildung 8.6-5 gezeigt.

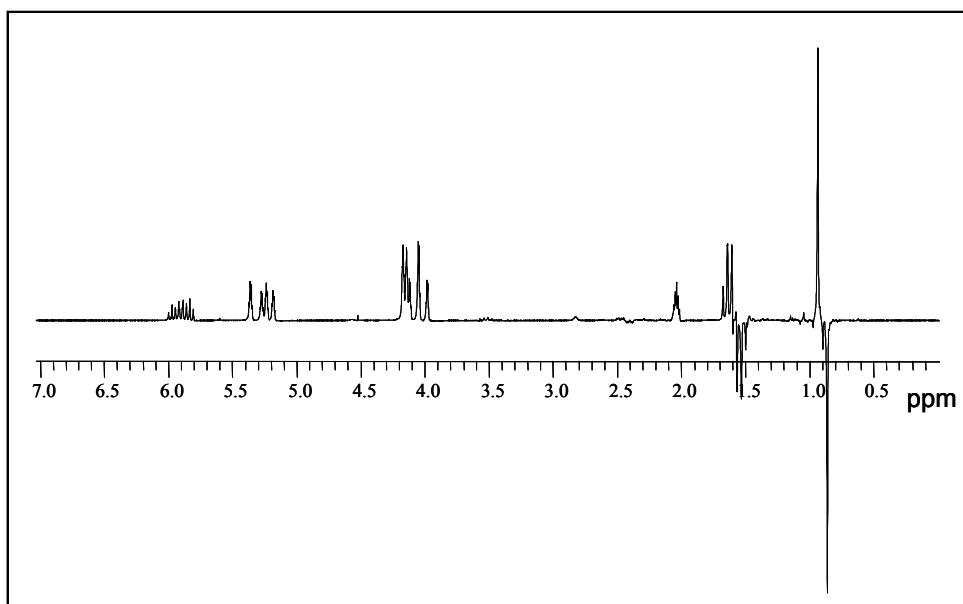


Abbildung 8.6-5: ^1H -Spektrum der Hydrierung des Allyl-2,2,3,3,3-pentafluorpropylethers unter PASADENA-Bedingungen

Das Spektrum zeigt die für PASADENA-Bedingungen charakteristischen Polarisations-signale der übertragenen Protonen. Die im Vergleich dazu verschwindend geringe Intensität des Signals der benachbarten Methylengruppe 3.6 ppm beweist, dass der im ALTADENA-Experiment detektierte Polarisations-transfer auf diese Protonen ausschließlich durch isotropes Mischen entstanden sein kann, also auf die Aufhebung der Verschiebungsdifferenzen der unterschiedlichen Gruppen bei der Hydrierung im schwachen Erdmagnetfeld zurückzuführen sein muss.

Eine Detektion entsprechender ^{13}C -Polarisationssignale für dieses System gelingt weder unter ALTADENA-, noch unter PASADENA-Bedingungen. Dieses Ergebnis ist im Hinblick auf die wenig verstärkten Polarisationssignale der übertragenen Protonen durchaus plausibel. Die Tatsache aber, dass im Protonenkanal die Erzeugung eines solchen spinpolarisierten Systems nachgewiesen werden kann, deutet darauf hin, dass ein Polarisationstransfer auf die ^{13}C -Kerne solcher Substrate durch den Einsatz bestimmter Katalysator/Lösungsmittel-Kombinationen, die eine bessere Umsatzrate ermöglichen, durchaus wahrscheinlich ist.

An dieser Stelle bleibt zu klären, welcher der strukturellen Unterschiede, im Vergleich zur Umsetzung des Ethylvinylethers, für die verringerte Signalverstärkung verantwortlich ist. Sowohl die Fluorierung der Seitenkette als auch der größere Abstand der hydrierten Doppelbindung könnte in diesem Fall für das unterschiedliche Verhalten ursächlich sein. Im folgenden Experiment wird daher die Umsetzung des unfluorierten Allylethylethers untersucht. Zur Reaktion unter ALTADENA-Bedingungen werden wiederum gleiche Mengen des Substrats eingesetzt.

Die aus der Messreihe ermittelte Signalverstärkung in den erhaltenen ^1H -PHIP-Spektren liegt in der gleichen Größenordnung wie im Falle des fluorierten Derivats. Die dem Hydrierzentrum benachbarte Methylengruppe erfährt durch den Effekt des isotropen Mischens eine analoge Verstärkung. Für dieses System ist also nicht von einer gesteigerten Umsatzrate auszugehen, die sich im Protonenkanal in einer entsprechend höheren Signalverstärkung widerspiegeln sollte. Trotzdem können für dieses System im ^{13}C -Kanal schwache Antiphasensignale detektiert werden, die in Abbildung 8.6-6 mit der Struktur des Hydrierprodukts und den gekennzeichneten Übertragungspositionen (*) dargestellt sind.

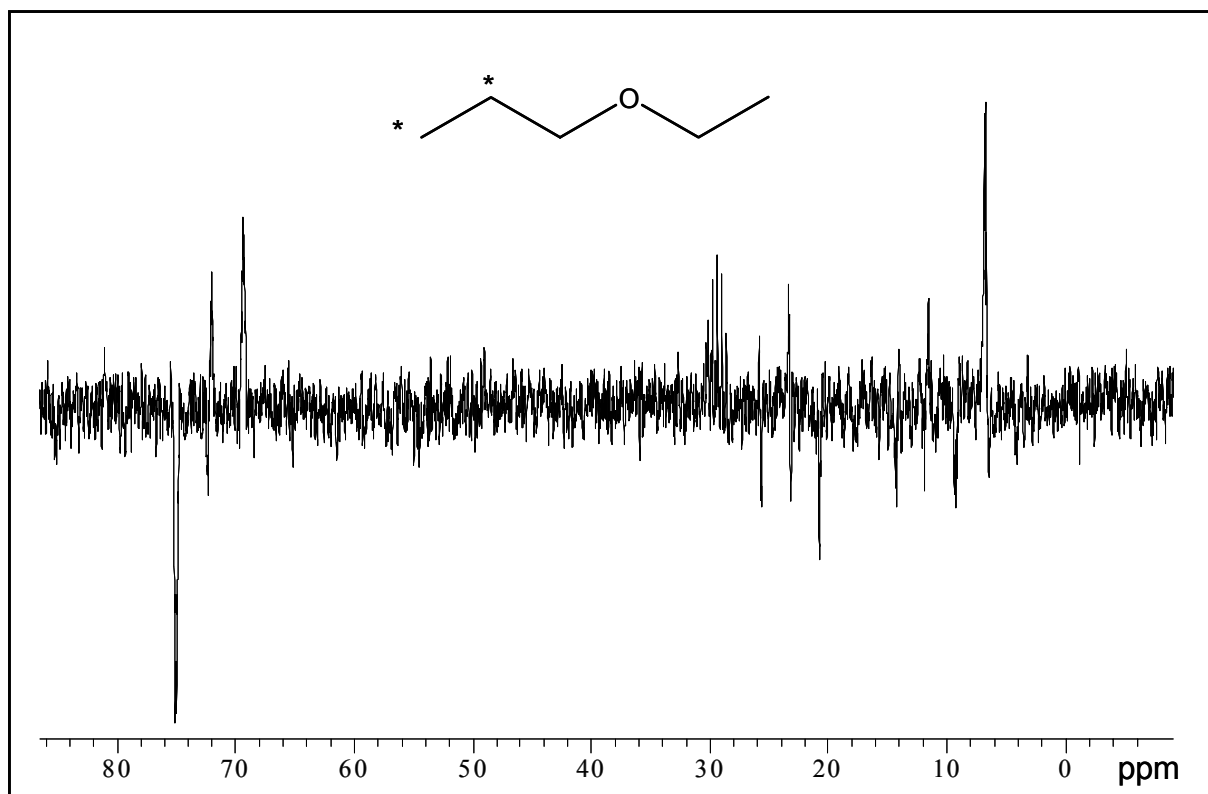


Abbildung 8.6-5: ^{13}C -Spektrum der Hydrierung des Allylethylethers

Die mit den übertragenen Protonen direkt verbundenen ^{13}C -Kerne erscheinen bei einer Verschiebung von 10.4 ppm (CH_3) und 23.3 ppm (CH_2). Die $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungskonstante beträgt für beide Signale 124 Hz. Auch die benachbarte Methylengruppe bei einer Verschiebung von 72.2 ppm mit einer $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung von 135 Hz zeigt ein deutliches Polarisationsignal. Weitere Signale können in diesem Spektrum nicht beobachtet werden, was darauf hinweist, dass eine effektive Kopplung über den Ethersauerstoff hinweg nicht stattfindet.

Die verringerte Umsatzrate führt also zu einer im Vergleich mit der Hydrierung des Ethylvinylethers verminderten Signalintensität der ^{13}C -Signale. Das Ausbleiben entsprechender Signale bei der Umsetzung des fluorierten Substrates muss, bei offensichtlich ähnlichen Umsatzraten, auf einen anderen Effekt zurückzuführen sein. Die Fluorierung der Seitenkette könnte einen Einfluss auf die Relaxationszeiten haben, die wie gezeigt für die erhaltenen Signalintensitäten mitverantwortlich sind. Entsprechende Untersuchungen über die Relaxationszeiten der Polarisationsignale für solche Systeme werden in Kapitel 10 vorgestellt.

Da eine Kopplung zur sauerstoffverknüpften Seitenkette auch im Falle des Allylethylethers nicht nachgewiesen werden kann, ist davon auszugehen, dass eine Veränderung der Kopplungsverhältnisse durch die Fluorierung keinen Einfluss auf den Polarisationstransfer ausübt. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Fluorierung der Seitenkette zu einer veränderten räumlichen Anordnung des betrachteten Moleküls, besonders im Übergangszustand, führt. Dies könnte eine mögliche Erklärung für das beobachtete Verhalten sein, wenn man annimmt, dass ein Teil der Polarisation bereits durch Koordination des Parawasserstoffes und des noch unhydrierten Substrates an den Katalysatorkomplex übertragen werden kann (Kap. 11).

9. Einfluss des Lösungsmittels

9.1 Polarisationstransfer im starken Magnetfeld

In den zuvor geschilderten Untersuchungen hat sich bereits angedeutet, dass die Umsatzrate der die Polarisation generierenden Hydrierreaktion einen Einfluss auf die erfolgreiche Detektion entsprechender Signale im ^{13}C -Kanal ausübt. Anhand des in Kapitel 4 erläuterten Reaktionsmechanismus lässt sich erkennen, dass das eingesetzte Lösungsmittel als Ligand im Katalysezyklus eine entscheidende Rolle spielt. Der Einsatz verschiedener Lösungsmittel in einem Polarisationstransferexperiment kann den Einfluss auf die Umsatzrate und damit auf den untersuchten Transfer quantifizierbar machen. Die Voraussetzung für einen Vergleich der Effektivität dieses Transfers über die ermittelten Signalintensitäten ist die Einhaltung exakt gleicher Reaktionsbedingungen. Abgesehen von den eingesetzten Substrat- und Katalysatormengen müssen besonders die Hydrier- und Posthydrierzeiten exakt eingehalten werden. Unter PASADENA-Bedingungen können die letztgenannten Parameter einfach rechnergesteuert werden. Es bietet sich daher an, solche Vergleichsmessungen durch die Hydrierung der Probenlösung innerhalb des Spektrometers durchzuführen. Ein spontaner Polarisationstransfer auf die ^{13}C -Kerne eines Substrates im PHIP-Experiment wurde bisher jedoch ausschließlich für Messungen unter ALTADENA-Bedingungen dokumentiert. Es wird davon ausgegangen, dass die starke Kopplung der beteiligten Kerne untereinander im schwachen Erdmagnetfeld eine der Grundvoraussetzungen für einen effektiven Transfer der Polarisation darstellt. Da sich die Präzessionsfrequenzen von Protonen und ^{13}C -Kernen auch im schwachen Magnetfeld von $5 \times 10^{-4} \text{ T}$ noch um 15 kHz unterscheiden, handelt es sich bezüglich dieser Kerne unter diesen Bedingungen, auch bei großen CH-Kopplungskonstanten, grundsätzlich um schwach gekoppelte Spinsysteme. Für die betrachteten Protonen jedoch hat die Hydrierung im schwachen Feld deutliche Konsequenzen. Der bereits erläuterte Effekt des isotropen Mischens resultiert aus der Aufhebung der Unterschiede in den Präzessionsfrequenzen der Protonen im betrachteten Spinsystem. Das bedeutet, dass auch bei Übertragung des Parawasserstoffs auf ein unsymmetrisches Substrat im Erdmagnetfeld in jedem Fall ein stark gekoppeltes Spinsystem resultiert.

Diese starke Kopplung der übertragenen Protonen untereinander kann ausschlaggebend für einen effektiven Transfer der Polarisation auf die ^{13}C -Kerne des betreffenden Systems sein. Um zu überprüfen, inwieweit diese starke Kopplung, die eigentliche Basis für einen erfolgreichen Transfer darstellt, wird der Polarisationstransfer unter PASADENA-Bedingungen an einem asymmetrischen, schwach gekoppelten Spinsystem untersucht. Da der Acrylsäureester sowie verschiedene Derivate bereits erfolgreich für Experimente im schwachen Feld eingesetzt wurde und dessen Hydrierung zu einem schwach gekoppelten Spinsystem führt, eignet sich dieses Substrat auch gut für eine Untersuchung der Lösungsmittelabhängigkeit. Für das folgende Experiment wurden 250×10^{-3} mmol Acrylsäureethylester mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in 700 μl Aceton- d_6 eingesetzt. Die PASADENA-Messreihe wurde mit Hydrierzeiten von 10 und 20 Sekunden und einer Posthydrierzeit von 2 und 3 Sekunden durchgeführt.

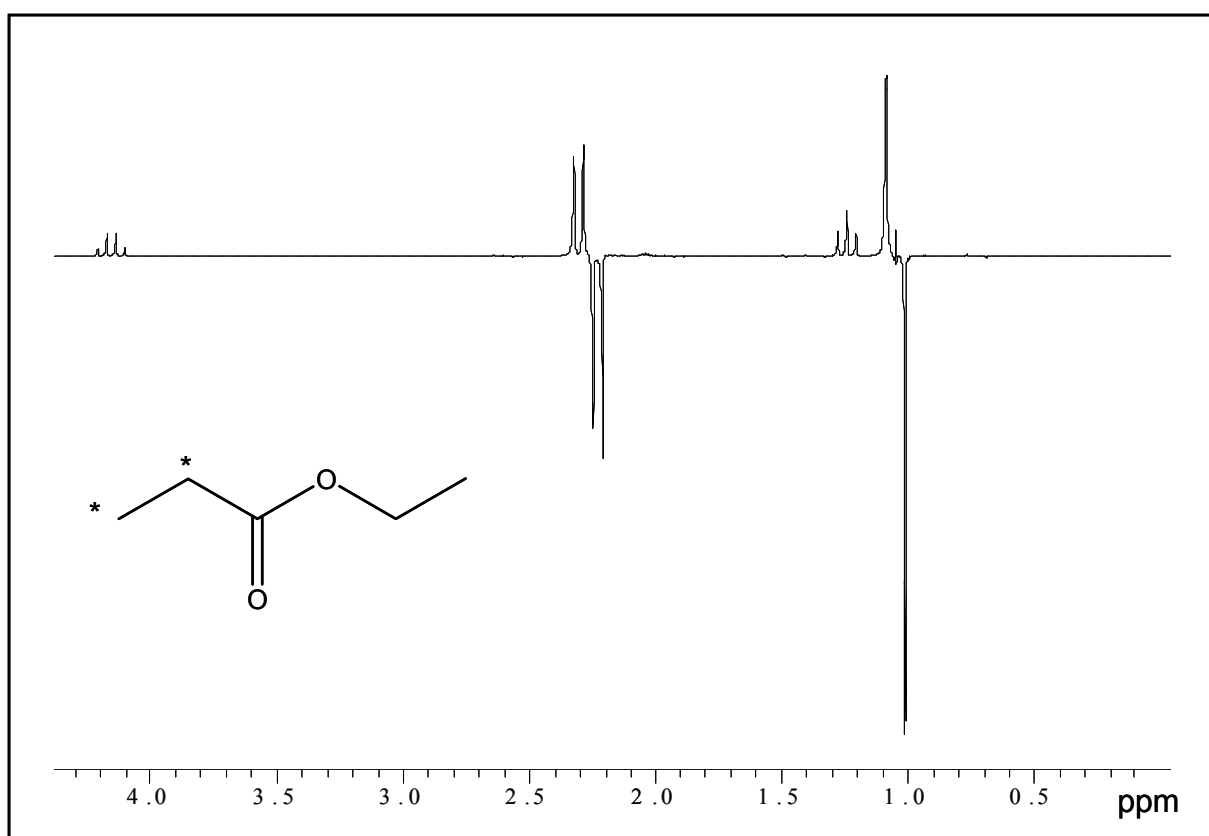


Abbildung 9.1-1: Ausschnitt des ^1H -PHIP-Spektrums der Hydrierung von Acrylsäureethylester unter PASADENA-Bedingungen

In Abbildung 9.1-1 ist ein Ausschnitt des ^1H -PHIP-Spektrums mit der Struktur des Hydrierprodukts gezeigt, das nach einer Gesamthydrierzeit von nur 10 Sekunden erhalten wurde. Die für Hydrierungen im starken Feld charakteristischen Antiphasensignale der übertragenen Protonen zeigen eine gute Umsetzung des Substrates unter diesen Bedingungen an. Die Verschiebungsdifferenz dieser Signale beträgt 1.2 ppm, also 240 Hz. Mit einer $^3J_{\text{HH}}$ -Kopplungskonstanten von 7.5 Hz zeigt sich, dass es sich bei dem Produktpinsystem, dem Propionsäureethylester, um ein schwach gekoppeltes Spinsystem handelt.

Anhand der in dieser Messreihe erhaltenen ^{13}C -Spektren lässt sich eindeutig nachweisen, dass eine starke Kopplung der übertragenen Protonen keine notwendige Bedingung für die Beobachtung des Transfereffekts darstellt. Dieses Ergebnis konnte auch für den Transfer der Polarisation auf ^{19}F -Kerne bestätigt werden [80]. In Abbildung 9.1-2 ist das ^{13}C -PHIP-Spektrum gezeigt, das nach einer Gesamthydrierzeit von 40 Sekunden detektiert wurde.

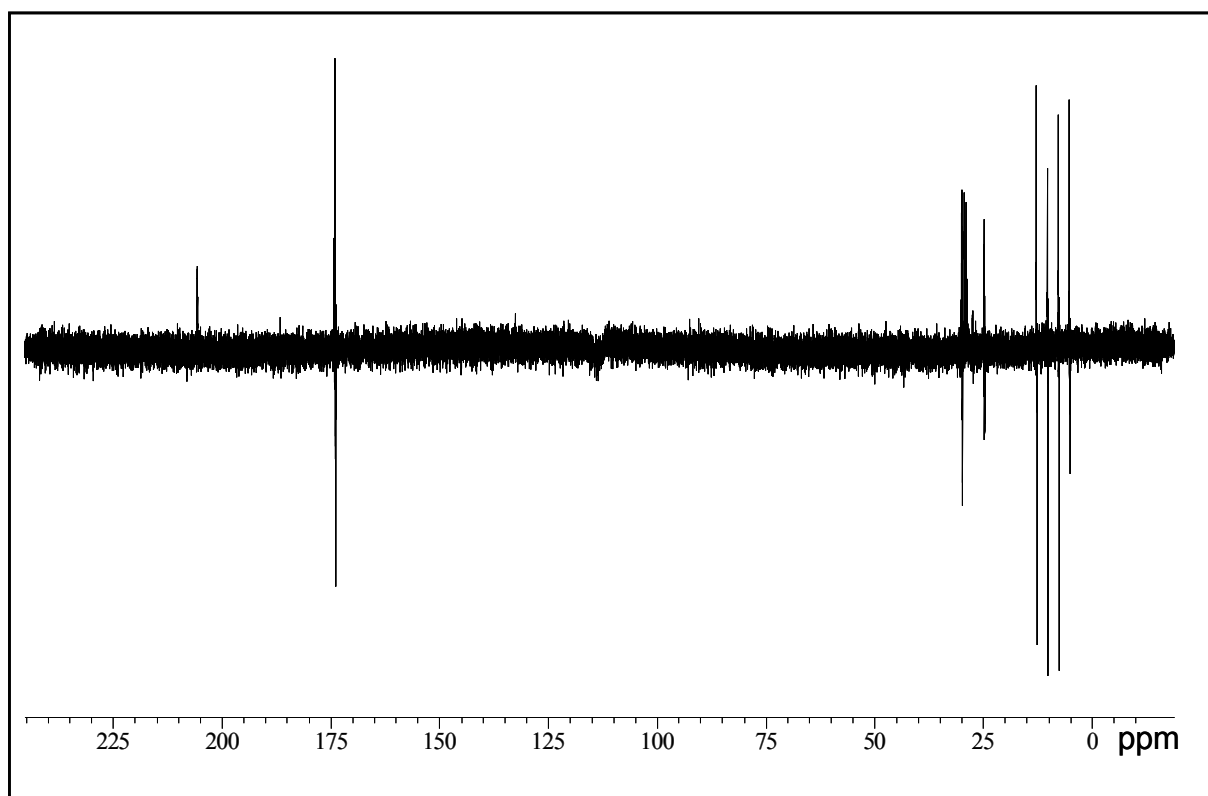


Abbildung 9.1-2: ^{13}C -Spektrum des spinpolarisierten Propionsäureesters unter PASADENA-Bedingungen

Zum besseren Vergleich der unter den verschiedenen Bedingungen erhaltenen ^{13}C -Polarisationsspektren sind die Signale der direkt mit einem der übertragenen Parawasserstoffkerne verbundenen ^{13}C -Kerne der Methylgruppe in Abbildung 9.1-3 gegenübergestellt. Die Signale wurden den jeweils intensitätsstärksten Spektren der einzelnen Messreihen entnommen. In der Abbildung sind die entsprechenden Kopplungskonstanten des Signals bei der Verschiebung von 8.9 ppm mit angegeben.

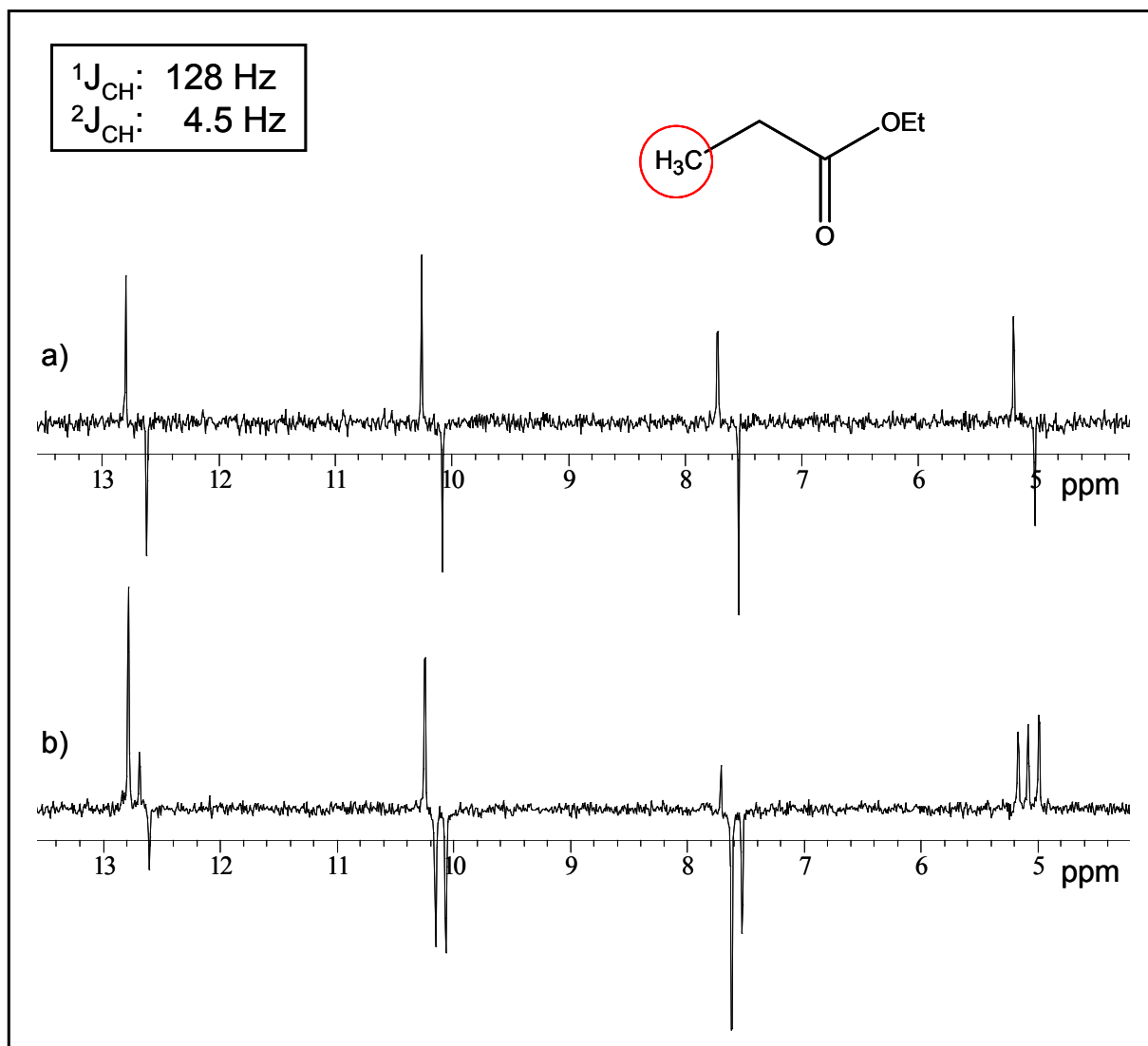


Abbildung 9.1-3: ^{13}C -PHIP-Spektren der Methylgruppe des spinpolarisierten Propionsäureesters unter a) PASADENA-Bedingungen b) ALTADENA-Bedingungen

Schon anhand der unterschiedlichen Aufspaltungsmuster lassen sich, analog zu ^1H -PHIP-Spektren, die verschiedenen Experimentführungen unterscheiden.

Erstaunlicherweise liegen die Signalintensitäten in einer vergleichbaren Größenordnung. Da sich die Experimente aber noch durch weitere Faktoren als der Feldstärke während der Hydrierung voneinander unterscheiden, kann an dieser Stelle zunächst nur auf die Detektion eines Transfers unter PASADENA-Bedingungen geschlossen werden. Damit eröffnet sich die Möglichkeit zur Durchführung von Vergleichsmessungen unter gut reproduzierbaren Bedingungen.

Da der Einfluss der Feldstärke bei diesen Messungen und die auftretenden Signalmuster von besonderem Interesse sind, sollen diese noch in Kapitel 12 behandelt werden.

9.2 Untersuchung der Lösungsmittelabhängigkeit unter PASADENA-Bedingungen

Wie im vorangegangenen Kapitel gezeigt wurde, ist die Hydrierung des Acrylsäureethylesters unter PASADENA-Bedingungen für eine Vergleichsmessung zum Einfluss des eingesetzten Lösungsmittels auf den Polarisationstransfer sehr gut geeignet. Für die folgenden Messreihen wurden 200×10^{-3} mmol Acrylsäureester mit 5.5×10^{-3} mmol des Rhodiumkatalysators in je 700 μl des deuterierten Lösungsmittels eingesetzt. In allen Messreihen werden mehrere Hydrierschritte mit Hydrierzeiten zwischen 10 und 30 Sekunden durchgeführt und die zugehörigen ^1H - und ^{13}C -PHIP-Spektren, sowie die entsprechenden thermischen Spektren aufgenommen. Aus den identisch durchgeführten Messreihen wurde dann der Signalverstärkungsfaktor aus den intensitätsstärksten Spektren sowohl für die Protonen als auch für die ^{13}C -Kerne ermittelt. In Tabelle 9.2 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen zur Übersicht zusammengefasst.

Lösungsmittel	SE (^1H)	SE (^{13}C)	Transfer
Aceton	290	116	+
Methanol	348	185	+
Ethanol	437	190	+
DMSO	99		-
Benzen	45		-
DMF	184		+
Dioxan	86		-
Methylenchlorid	82		-
Chloroform	202	152	+
THF	115		+

Tabelle 9.2

Die mit einem positiven Transfer (+) gekennzeichneten Experimente, für die kein SE-Faktor angegeben ist, weisen eine für die Ermittlung des Überhöhungsfaktors unzureichende, wenn auch detektierbare Signalintensität auf. Aus den in der Tabelle aufgelisteten Messdaten lassen sich zwei wesentliche Faktoren ablesen, die für einen effektiven Transfer der Polarisation auf den ^{13}C -Kern maßgeblich sind. Das Ausmaß der Polarisation, die in Form der Signalverstärkung für die übertragenen Protonen ermittelt wird, ist hier direkt mit der Intensität der Polarisationssignale für den verknüpften Heterokern korreliert. Für ein gegebenes Spinsystem kann also bei identischen Kopplungsverhältnissen der Polarisationstransfer direkt über die Umsatzrate gesteuert werden. Des Weiteren zeigt sich, dass sich der Einsatz polarer Lösungsmittel wie der Alkohole für dieses System ausgesprochen positiv auswirkt. Wie bereits erläutert, ist die Reaktionsführung in einem körpervertäglichen Medium für den angestrebten Einsatz der Methode in der medizinischen Diagnostik ein wichtiger Faktor. Die Umsatzzraten bei der Hydrierung im wässrigen Medium, das für eine solche Anwendung natürlich besonders geeignet ist, sind in der Regel aufgrund der schlechten Löslichkeit des Wasserstoffs in diesem Medium relativ gering. Die Erzeugung spinpolarisierter Substrate in Ethanol, das in begrenzten Mengen durchaus physiologisch verträglich und auch zur Passage der Blut-Hirn-Schranke befähigt ist, stellt damit eine gute Alternative dar.

10. Relaxationszeiten

Wie in Kapitel 5 erläutert wurde, können die Relaxationszeiten von Polarisationsignalen mitunter stark von denen der thermischen Signale abweichen, was auch für bestimmte Systeme schon bewiesen wurde [74, 48].

An dieser Stelle sollen daher die Relaxationszeiten von Polarisationsignalen verschiedener, in dieser Arbeit untersuchter Spinsysteme bestimmt werden. Eine Ermittlung der gewünschten Daten kann wie erwähnt nicht über Standardmethoden erfolgen, die für die analogen thermischen Signale angewendet werden. Die durch die Hydrierung erzeugten, spinpolarisierten Systeme befinden sich in einem vom thermischen Gleichgewicht abweichenden Zustand. Die Relaxationszeiten können also direkt aus der zeitlichen Änderung der detektierten Signalintensitäten mit Hilfe der folgenden Gleichung bestimmt werden.

$$I(t) = I_0 \cdot e^{-\frac{t}{T_p}}$$

Dabei muss jedoch ein wichtiger Punkt berücksichtigt werden. Die Intensität der erhaltenen Signale wird grundsätzlich durch zwei gegenläufige Faktoren beeinflusst. Die detektierte Polarisation wird durch die Hydrierung mit Parawasserstoff gebildet. Erst nach dem vollständigen Verbrauch des in die Lösung eingebrachten Wasserstoffs ist die die Polarisation generierende Hydrierreaktion beendet. Erst ab diesem Zeitpunkt unterliegen die erhaltenen Signale ausschließlich der Relaxation. In Abbildung 10-1 ist der zeitliche Verlauf der relativen Signalintensitäten wiedergegeben, der für die Hydrierung des Acrylsäureesters unter PASADENA-Bedingungen mit einer Hydrierzeit von 10 Sekunden unter Variation der Posthydrierzeit für die ^1H -PHIP-Signale der Methylgruppe erhalten wurde.

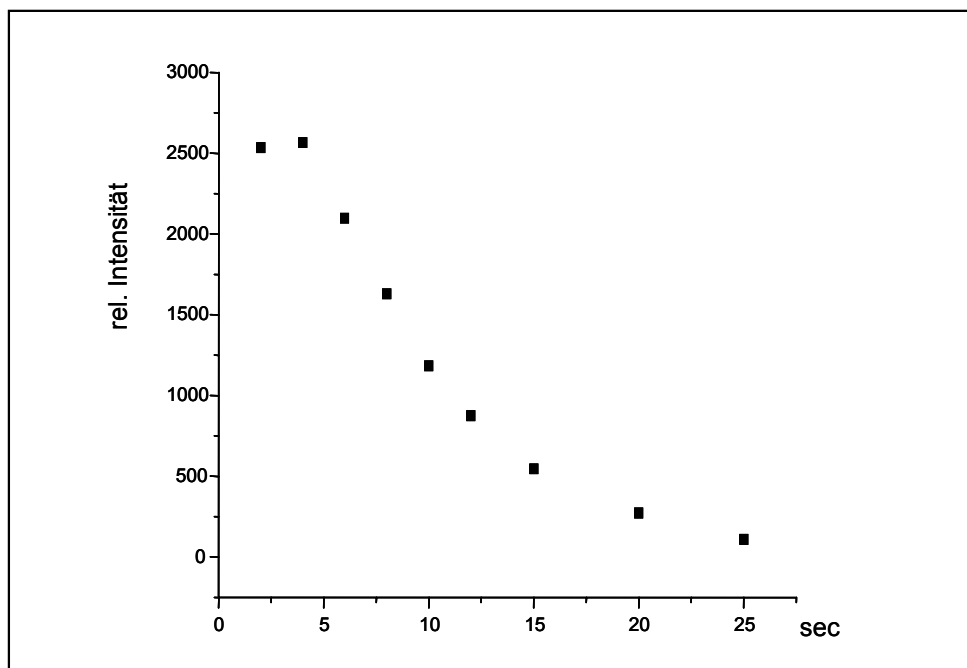


Abbildung 10-1 *Relative Intensitäten der ^1H -Polarisationssignale bei der Hydrierung von Acrylsäureethylester unter PASADENA-Bedingungen*

Bei kurzen Posthydrierzeiten wird die Signalintensität noch durch die Produktbildung dominiert. Erst nach einem Zeitraum von ca. 7 Sekunden zeigt der exponentielle Abfall der Intensität den überwiegenden Einfluss der Relaxation an. Zur Ermittlung des Zeitpunktes, ab dem die Signalintensität ausschließlich durch Relaxationsprozesse bestimmt wird, erfolgt eine halb-logarithmische Auftragung der Messdaten, die in diesem Bereich einem Geradenverlauf folgen müssen. Diese Vorgehensweise erleichtert die Auffindung der Messdaten, die dann für einen exponentiellen Fit mit Hilfe des Programms Origin 7G verwendet werden. Die Relaxationszeiten werden nach dem Marquard-Levenberg-Algorithmus mit Hilfe der oben genannten Gleichung ermittelt. Ein solcher Fit ist für das gezeigte Beispiel in Abbildung 10-2 dargestellt.

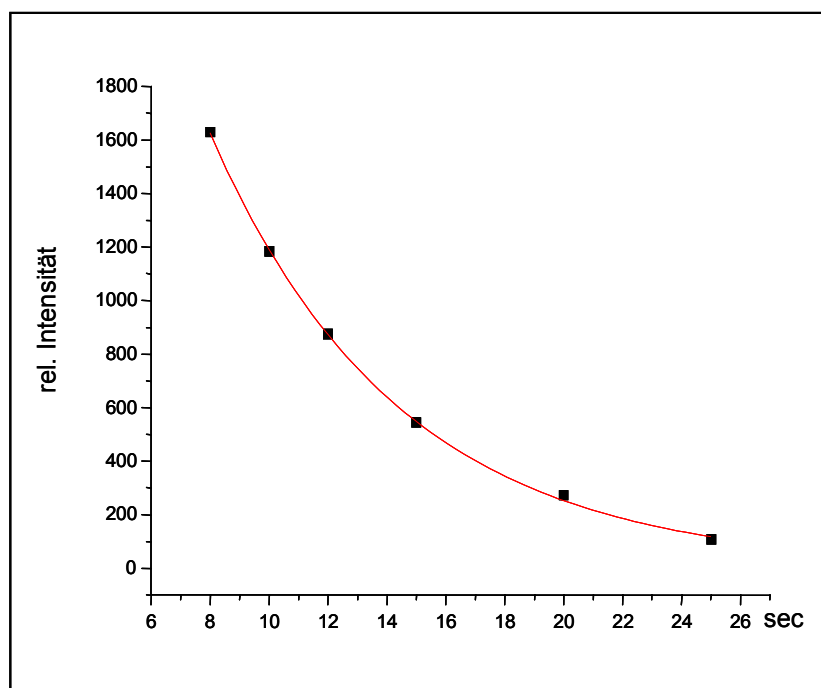


Abbildung 10-1 *Exponentieller Fit der ausschließlich der Relaxation unterliegenden Signalintensitäten der ^1H -Polarisationssignale der Methylgruppe des spinpolarisierten Propionsäuremethylesters*

Für die ^1H -PHIP-Signale der Methylgruppe des spinpolarisierten Propionsäureethylesters kann so eine Relaxationszeit von 6.4 ± 0.2 s ermittelt werden. Für die benachbarte Methylengruppe ergibt sich ein Wert von 6.9 ± 1.5 s. Diese Daten stehen in guter Übereinstimmung mit den für die Hydrierung des Acrylnitrils schon zuvor bestimmten Relaxationszeiten [70].

Auf die gleiche Weise gelingt die Bestimmung von Relaxationszeiten der entsprechenden Signale polarisierter ^{13}C -Kerne. In Abbildung 10-3 ist der Intensitätsverlauf der Polarisationssignale der Methylgruppe im polarisierten Propionsäureethylester mit dem entsprechenden Fit dargestellt.

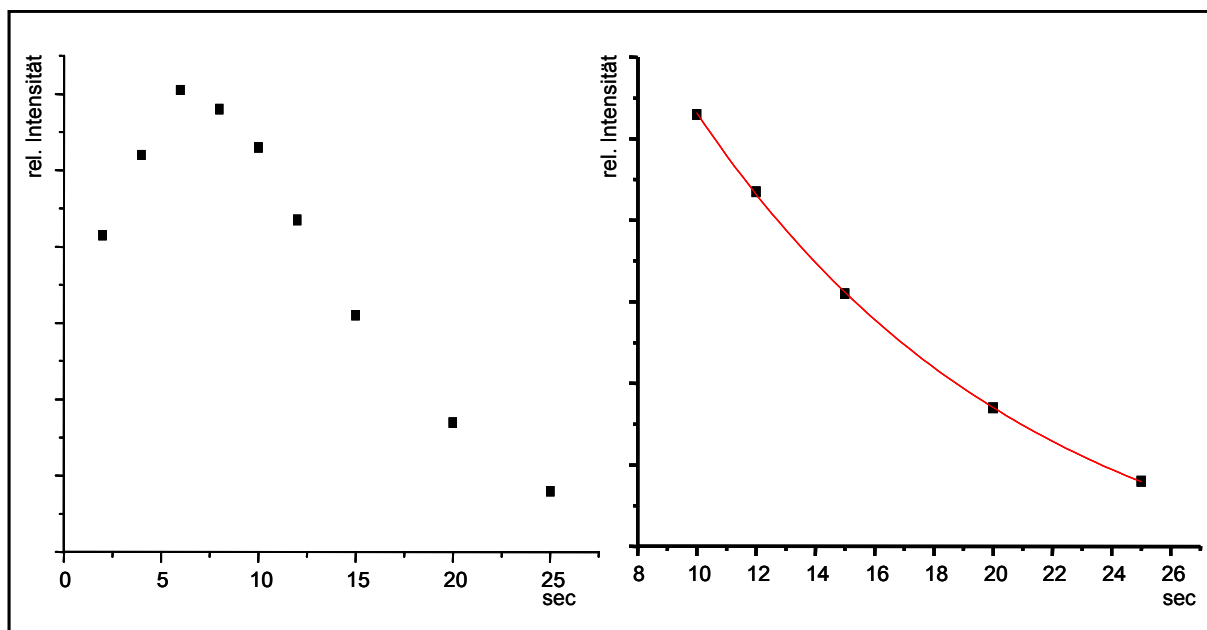


Abbildung 10-3: *Intensitätsverlauf der ^{13}C -PHIP-Signale der Methylgruppe im Propionsäureethylester links und exponentieller Fit rechts*

Die Relaxationszeit der polarisierten ^{13}C -Kerne dieser Gruppierung beträgt 11.3 ± 0.5 s. Auch an dieser Stelle zeigt sich ein Vorteil des Transfers der Polarisation auf diesen Kern, dessen Signale eine deutlich längere Relaxationszeit aufweisen.

Im Folgenden werden die Relaxationszeiten der Polarisationsignale weiterer, in den vorangegangenen Kapiteln besprochener, interessanter Spinsysteme ermittelt. Neben den Hydrierprodukten des Ethylvinylethers und der 4-Pentinsäure, die für eine Anwendung dieses Markierungsverfahrens besonders viel versprechend sind, soll ein Vergleich der entsprechenden Daten für die Umsetzung des Allyl- und des Pentafluorallylethers Aufschluss über das unterschiedliche Transferverhalten dieser Systeme liefern.

Eine Ermittlung der ^{13}C -Relaxationszeiten für die erwähnten Systeme ist unter diesen Bedingungen nicht möglich, da die geringeren Umsatzraten durch die Hydrierung im offenen Probenröhrchen eine Detektion entsprechender Polarisationsignale für diesen Kern verhindern. In Abbildung 10-4 ist als Beispiel das ^1H -PHIP-Spektrum der Hydrierung des Ethylvinylethers unter PASADENA-Bedingungen a) im Vergleich mit dem zugehörigen thermischen Spektrum b) gezeigt.

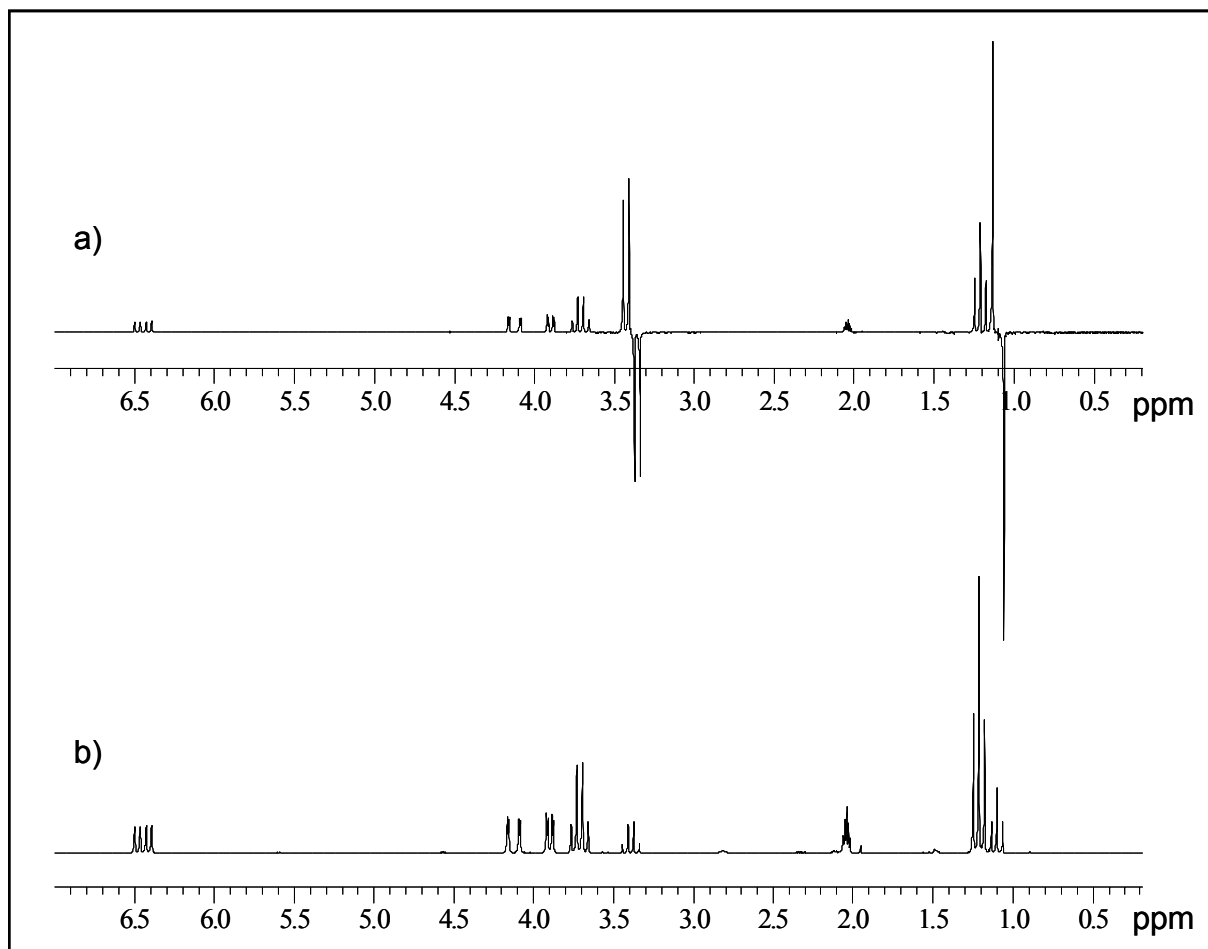


Abbildung 10-4: ^1H -Spektren der Hydrierung von Ethylvinylether unter PASADENA-Bedingungen
a) PHIP-Spektrum; b) thermisches Spektrum

Anhand der für die Polarisationsignale detektierten Intensitäten lässt sich gut erkennen, dass diese eine wesentlich geringere Verstärkung erfahren, als die im ALTADENA-Experiment (Abb. 8.6-2) erhaltenen Signale. Der für das PASADENA-Experiment ermittelte Verstärkungsfaktor von 33 zeigt die im Vergleich mit dem entsprechenden Faktor des ALTADENA-Experimentes (112), verringerte Umsatzrate an. In den ^{13}C -Spektren können daher auch keine ausreichenden Polarisationsignale registriert werden. Der Versuch, ein analoges ALTADENA-Experiment mit Hydrierung im Druckprobenröhrchen zur Ermittlung der Relaxationszeiten durchzuführen, zeigte bei Auswertung der erhaltenen Daten eine für die korrekte Bestimmung der gewünschten Daten zu große Anweichung der Signalintensitäten für die einzelnen Hydrierschritte.

Das Schütteln des unter Druck befindlichen Probenröhrchens über einen festgelegten Zeitraum kann offensichtlich nicht immer in gleicher Intensität erfolgen. Im Folgenden werden daher die Relaxationszeiten der ^1H -Polarisationssignale unter PASADENA-Bedingungen ermittelt.

In Abbildung 10-5 ist zunächst der zeitliche Verlauf der Polarisationssignale nach der Hydrierung des Allylethylethers und des 2,2,3,3,3-Pentafluorpropylallylethers in dem Bereich dargestellt, der für die Ermittlung der Relaxationszeiten nach dem oben beschriebenen Verfahren relevant ist.

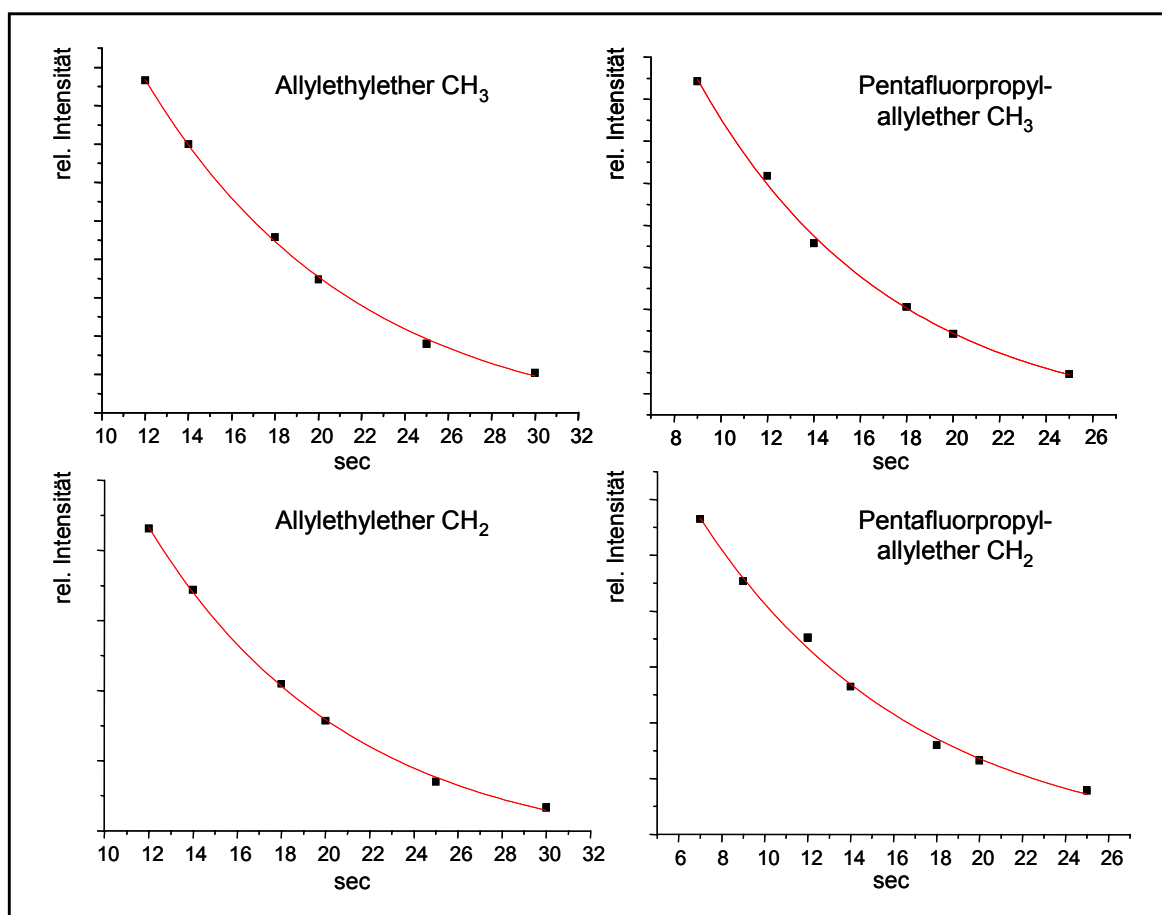


Abbildung 10-5: *Intensitäts-/Zeit-Verläufe der ^1H -Polarisationssignale nach Beendigung der Hydrierreaktion für verschiedene Produktgruppierungen bei Einsatz der aufgeführten Edukte*

Ein Vergleich der für diese Systeme ermittelten Relaxationszeiten, die zur Übersicht in Tabelle 10 aufgelistet sind, zeigt keine prägnanten Unterschiede.

Es muss also davon ausgegangen werden, dass für das unterschiedliche Transferverhalten, das für diese Verbindungen festgestellt werden konnte, ein voneinander abweichendes Relaxationsverhalten der polarisierten Protonen nicht verantwortlich ist. Da für die Hydrierung dieser Ether auch kein deutlicher Unterschied in den Umsatzraten festgestellt werden konnte, muss das Ausbleiben der ^{13}C -Polarisationssignale im Falle der Hydrierung des fluorierten Ethers durch andere Effekte verursacht werden. Die Fluorierung der Seitenkette kann wie erwähnt eine Veränderung der Molekülstruktur bewirken, die möglicherweise einen größeren Einfluss auf die Relaxationszeiten der ^{13}C -Polarisationssignale ausübt. Ebenso könnte ein deutlicher Anteil der Polarisation bereits in einem Übergangszustand der Hydrierreaktion übertragen werden (Kap. 11), der durch die veränderte Molekülstruktur zu anderen Kopplungsverhältnissen führen kann.

Berücksichtigt man die Tatsache, dass die Relaxationszeiten der ^1H -Polarisationssignale für diese Systeme unter PASADENA-Bedingungen, also im starken Magnetfeld, gemessen wurden, so ergibt sich daraus eine, im Hinblick auf die Anwendung in der MRT weitere Alternative. Durch eine mögliche Relaxationszeitverlängerung um den Faktor zwei bei Durchführung der Experimente und „Lagerung“ des Produktsinsystems im schwachen Erdmagnetfeld, die für bestimmte Systeme bereits nachgewiesen wurde [48], gelangt man auch für diese Systeme in eine Größenordnung von Relaxationszeiten, die den Einsatz in der Diagnostik ermöglichen sollten.

Edukt	Relaxationszeiten der Polarisationssignale [sec]
Acrylsäureethylester	$\text{CH}_3: 6.4 \pm 0.2$ $\text{CH}_2: 6.9 \pm 1.5$
2,2,3,3,3-Pentafluorpropylallylether	$\text{CH}_3: 8.3 \pm 0.9$ $\text{CH}_2: 10.0 \pm 1.2$
Allylethylether	$\text{CH}_3: 9.7 \pm 0.7$ $\text{CH}_2: 9.1 \pm 0.5$
Ethylvinylether	$\text{CH}_3: 17.6 \pm 4.2$
4-Pentinsäure	$\text{CH}_2: 45 \pm 5$ $\text{CH}: 33 \pm 2$

Tabelle 10 ^1H -Relaxationszeiten der jeweils intensivsten Polarisationssignale verschiedener Gruppierungen bei der Hydrierung der aufgeführten Edukte mit Parawasserstoff

Besonders für die Hydrierung des Ethylvinylethers und der 4-Pentensäure können hier extrem lange Relaxationszeiten ermittelt werden, die in der Tabelle 10 mit aufgeführt sind. Die Auswertung der Messdaten für die Signale der CH₂-Gruppe im spinpolarisierten Hydrierprodukt des Ethylvinylethers, dem Diethylether, ergab einen zu großen Fehler. Der entsprechende Messwert ist daher nicht angegeben. Die in die Berechnung mit einbezogenen Messdaten für den spinpolarisierten Diethylether und die 4-Pentensäure sind in Abbildung 10-6 dargestellt.

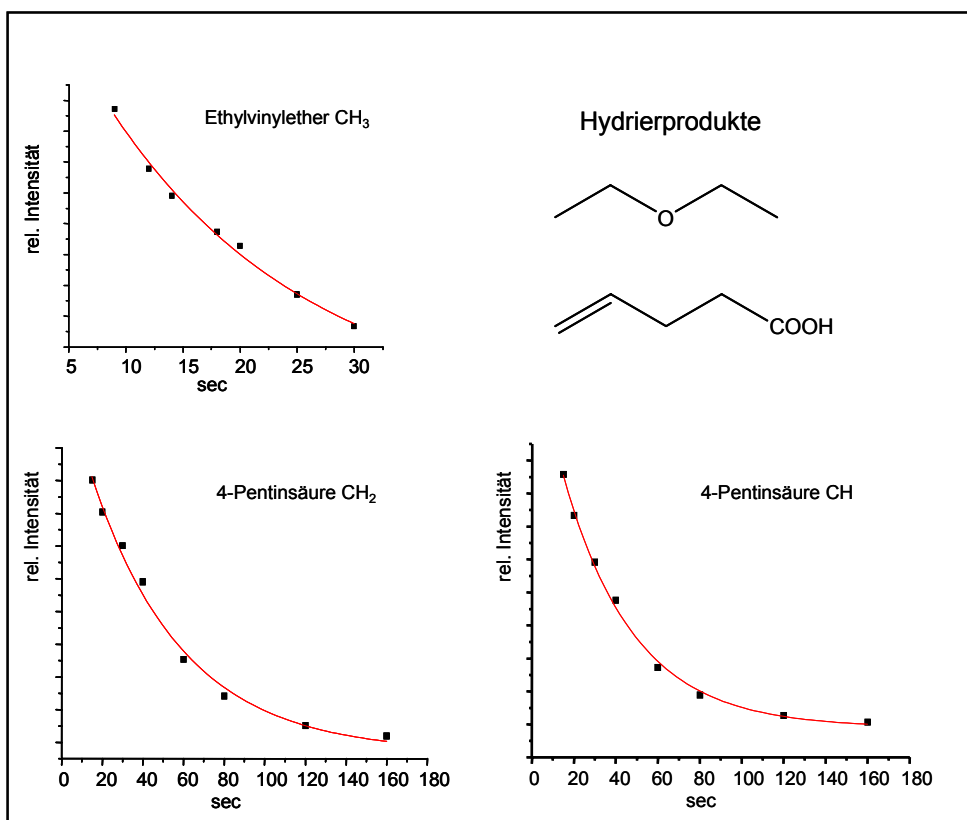


Abbildung 10-6: *Intensitäts-/Zeit-Verläufe der ¹H-Polarisationssignale nach Beendigung der Hydrierreaktion für verschiedene Produktgruppierungen bei Einsatz der aufgeführten Edukte*

Die Relaxationszeiten sind für die resultierenden Gruppierungen der spinpolarisierten 4-Pentensäure so lang, dass sogar nach einer Posthydrierzeit von 2 Minuten noch deutliche Signale detektiert werden können. Auch für den spinpolarisierten Diethylether kann für die Methylgruppe eine recht hohe Relaxationszeit von ca. 17 s ermittelt werden, was im Vergleich mit der für die thermischen Signale ermittelten Relaxationszeit von

5.2 s⁵ ein deutlich verändertes Relaxationsverhalten der Polarisationsignale anzeigt. Diese für bestimmte Systeme durch Symmetrieeffekte hervorgerufene Relaxationszeitverlängerung der ¹H-Polarisationsignale konnte bisher für die entsprechenden ¹³C-Signale nicht nachgewiesen werden, da diese Kerne durch die grundsätzlich schwache Kopplung zu den übertragenen Protonen keine feste Phasenbeziehung aufweisen [48]. Um das Relaxationsverhalten dieser Kerne im polarisierten Diethylether ansatzweise abschätzen zu können, wurde das entsprechende Edukt unter ALTADENA-Bedingungen umgesetzt, wobei die Detektion der Spektren im einen Fall direkt und im anderen Fall mit einer Verzögerungszeit von 20 Sekunden erfolgte. Die erhaltenen Spektren sind zum Vergleich in Abbildung 10-7 dargestellt.

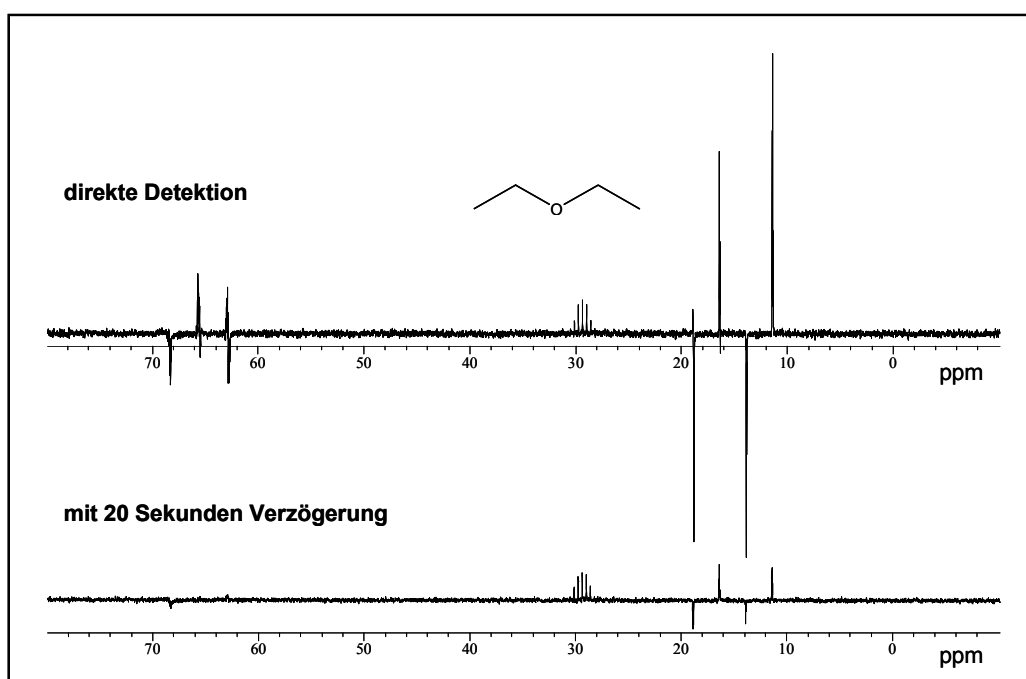


Abbildung 10-7: ¹³C-PHIP-Spektren des unter ALTADENA-Bedingungen erzeugten spinpolarisierten Diethylethers mit direkter und verzögerter Detektion

Dieses Experiment zeigt, dass eine Detektion der ¹³C-Polarisationsignale des spinpolarisierten Diethylthethers auch nach 20 Sekunden noch möglich ist, was die Basis für eine gute Anwendbarkeit dieses Systems in der MRT darstellt.

⁵ Die Messung erfolgte nach der Inversions-/Erholungsmethode und wurde von Herrn Reinhold Fligg durchgeführt

11. Polarisationstransfer auf ^{13}C -Kerne ohne Protonentransfer

In Kapitel 8.3 wurde bereits ein ^1H -PHIP-Spektrum der Hydrierung von Butin-3-ol vorgestellt (Abb. 8.3-6). Im zugehörigen ^{13}C -Spektrum der untersuchten Reaktion unter ALTADENA-Bedingungen in Aceton- d_6 sind, wie erwähnt, Polarisationssignale für alle im Molekül enthaltenen NMR-aktiven Kohlenstoffkerne detektierbar. Das entsprechende Spektrum ist in Abbildung 11-1 mit der Struktur des Hydrierproduktes und den farblich gekennzeichneten Signalzuordnungen dargestellt.

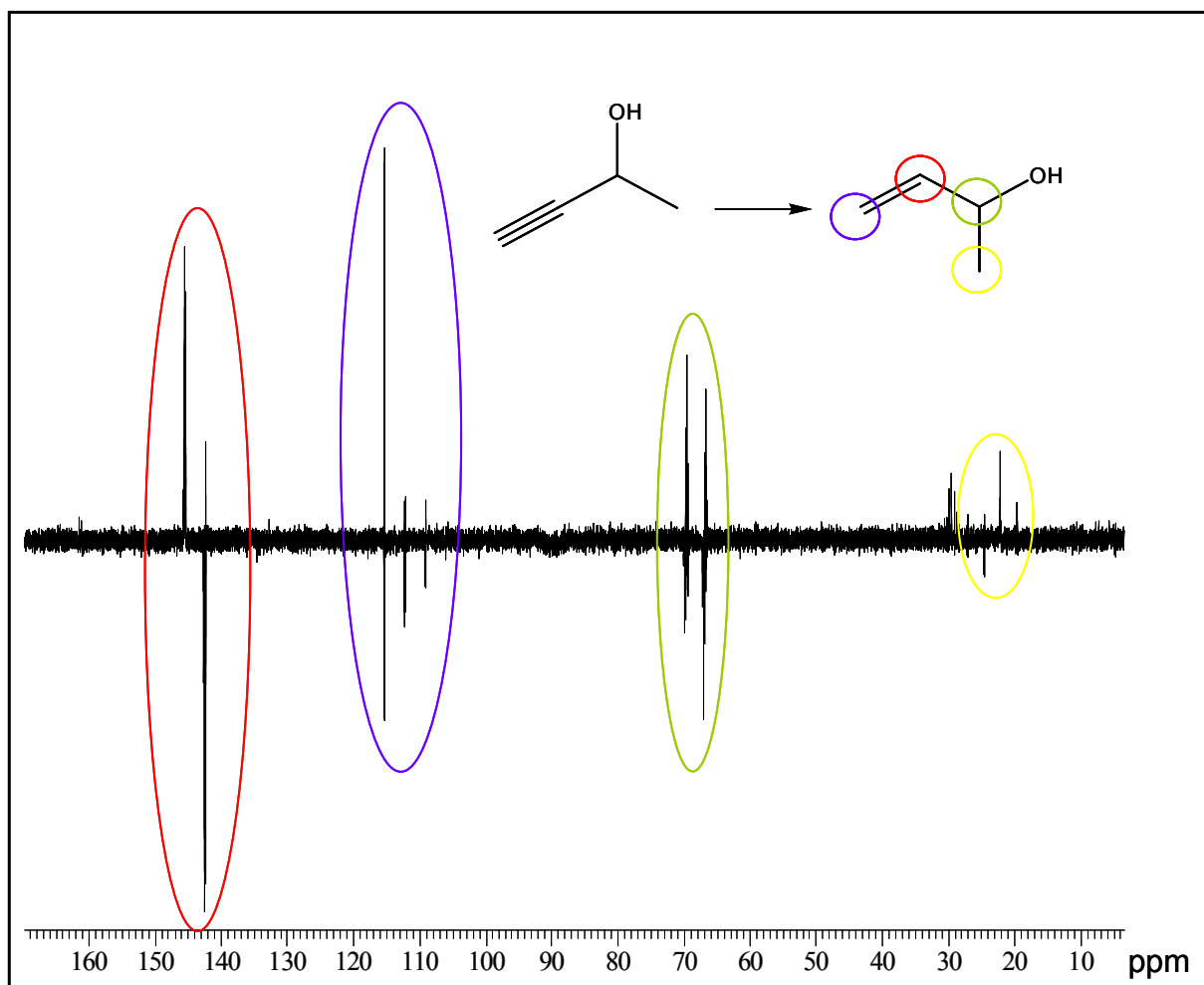


Abbildung 11-1: ^{13}C -PHIP-Spektrum des spinpolarisierten 1-Buten-3-ols

Dieses nach mehreren Hydrierschritten mit einer Gesamthydrierzeit von ca. 60 Sekunden erhaltene Spektrum zeigt, wie erwartet, eine Verteilung der Polarisation auf das gesamte Molekül.

In dem nach einer Gesamthydrierzeit von nur 40 Sekunden detektierten ^{13}C -PHIP-Spektrum derselben Hydrierreaktion zeigen sich jedoch noch weitere Antiphasensignale, die dem erwarteten Hydrierprodukt nicht zugeordnet werden können. In einem Ausschnitt dieses Spektrums, der in Abbildung 11-2 gezeigt ist, sind diese zusätzlichen Signale gekennzeichnet, deren Ursprung im Folgenden aufgeklärt werden soll.

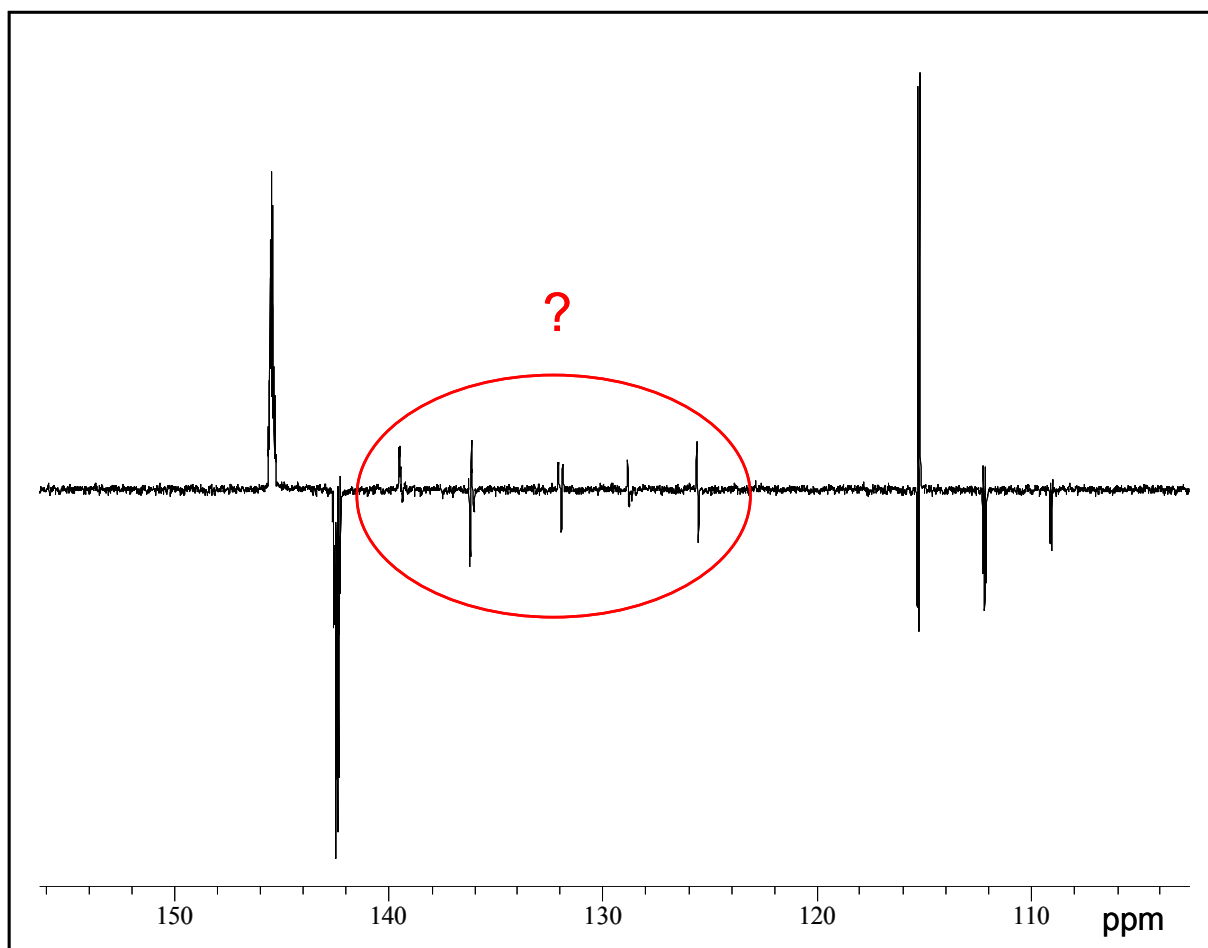


Abbildung 11-2: Ausschnitt des ^{13}C -PHIP-Spektrum des spinpolarisierten 1-Buten-3-ols nach einer Gesamthydrierzeit von ca. 40 Sekunden

Die Frage, ob es bei der untersuchten Hydrierreaktion zur Bildung weiterer Hydrierprodukte, zum Beispiel durch das Fortschreiten der Hydrierung durch Umsetzung des ungesättigten Alkohols kommt, lässt sich einfach durch den Vergleich des ^1H -PHIP-Spektrums mit dem thermischen Protonenspektrum nach erfolgter Umsetzung klären. Das nach der Detektion des gezeigten ^{13}C -PHIP-Spektrums detektierte ^1H -PHIP-Spektrum zeigt keine zusätzlichen Signale, die einem möglichen Nebenprodukt zuzuordnen wären,

welche zur Klärung der Zusatzsignale im ^{13}C -Spektrum beitragen können. Das Spektrum ist mit dem thermischen Spektrum, das nach der Reaktion detektiert wurde, inklusive der illustrierten Zuordnungen in Abbildung 11-3 dargestellt.

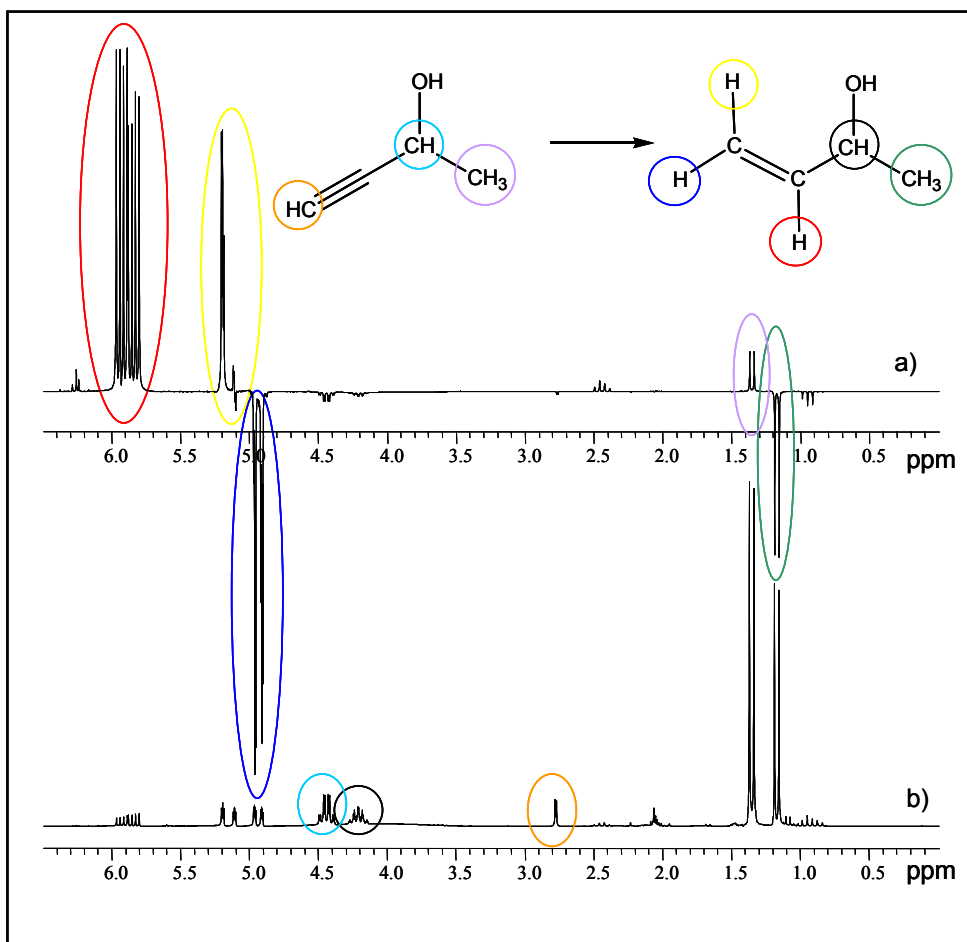


Abbildung 11-3: Vergleich des ^1H -PHIP-Spektrums der Hydrierung von Butin-3-ol a) mit dem nach der Umsetzung erhaltenen thermischen Spektrum b)

Lediglich zwei sehr schwache Multiplettsignale im aliphatischen Verschiebungsbereich bei 0.95 ppm und 2.45 ppm geben einen Hinweis auf eine mögliche Weiterhydrierung. Da die aufzuklärenden Zusatzsignale auf dem ^{13}C -Kanal jedoch im olefinischen Verschiebungsbereich liegen, kann hier die Ursache für diesen Effekt nicht gefunden werden. Besonders auffällig im ^1H -PHIP-Spektrum ist allerdings die Phasenlage des Signals der Methylgruppe des Hydrierproduktes, das in Emission erscheint. Der gleiche Effekt konnte auch bei der Hydrierung des strukturell ähnlichen Propiolsäuremethylesters mit Orthodeuterium beobachtet werden [48].

Dort erscheint im ^1H -Polarisationsspektrum das Signal der Methylgruppe ebenfalls in Emission. Für dieses Phänomen kann jedoch bisher keine anschauliche Erklärung gefunden werden.

Da die beobachteten Signale in den ^1H -Spektren alle den vor und nach der Hydrierung vorliegenden Spinsystemen zugeordnet werden können, liegt die Vermutung nahe, dass die im ^{13}C -Spektrum auftretenden Zusatzsignale einem Intermediat zuzuschreiben sind, das wegen der kürzeren Relaxationszeiten im Protonenkanal nicht mehr erfasst wird. Dasselbe Experiment wird daher mit möglichst kurzer Verzögerung zwischen Hydrierung und Detektion erneut durchgeführt. Der Ausschnitt aus dem olefinischen Verschiebungsbereich der detektierten Protonenspektren in Abbildung 11-4 zeigt im Vergleich von Polarisations- und thermischem Spektrum tatsächlich schwache Zusatzsignale, die auf ein mögliches Intermediat schließen lassen.

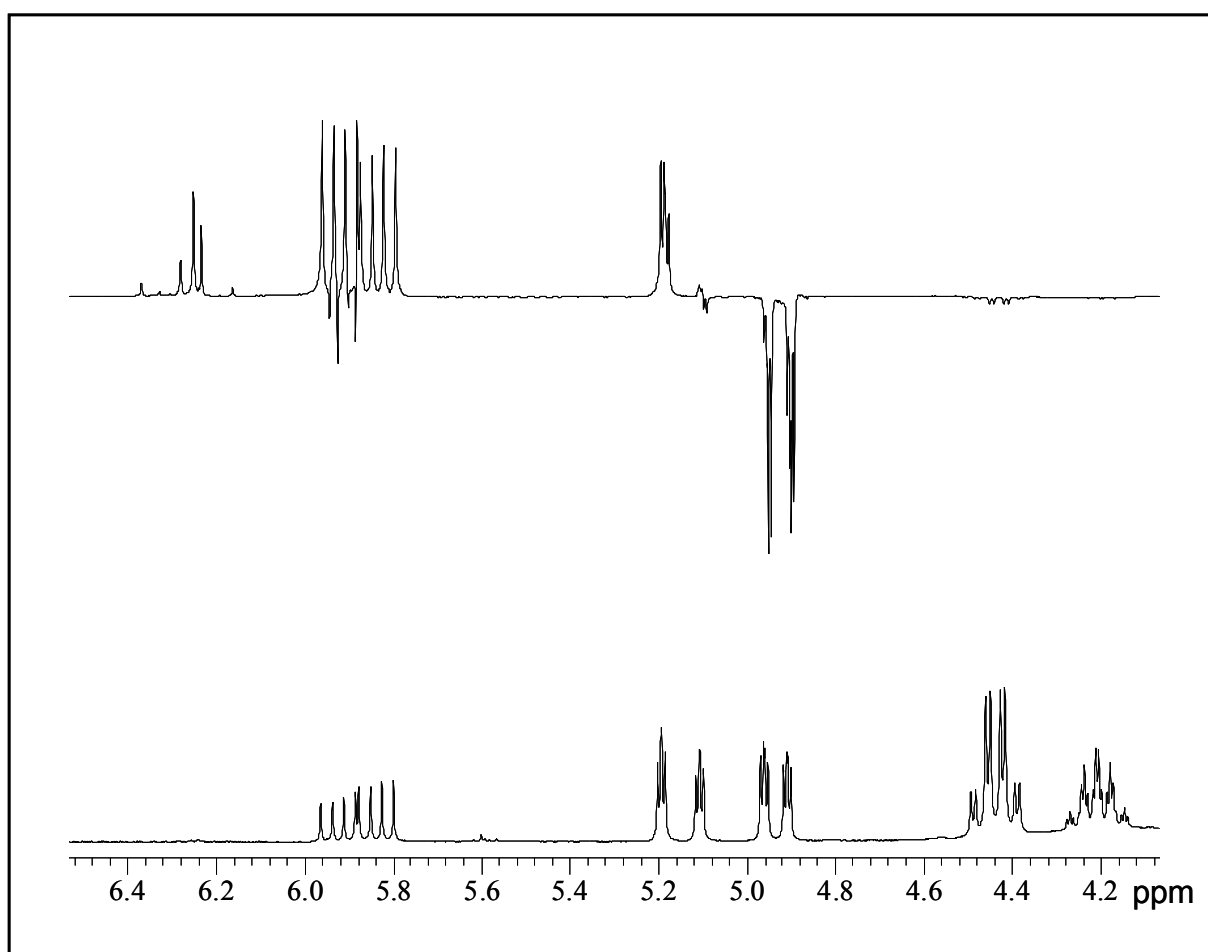


Abbildung 11-4: Ausschnitt des ^1H -PHIP-Spektrums der Hydrierung von Butin-3-ol bei schneller Detektion oben und des thermischen Produktspektrums unten

Die so genannten Propargylalkohole, zu denen auch das eingesetzte Edukt gehört, unterliegen mitunter einer Isomerisierung, die durch die Koordination an einen Übergangsmetallkatalysator ermöglicht wird [92]. Ein entsprechendes Isomerisierungsprodukt konnte bereits unter PASADENA-Bedingungen, die eine schnelle Detektion ermöglichen, auf dem ^1H -Kanal nachgewiesen werden [93]. Die Isomerisierung ist neben allen damit möglichen Reaktionswegen in Abbildung 11-5 dargestellt.

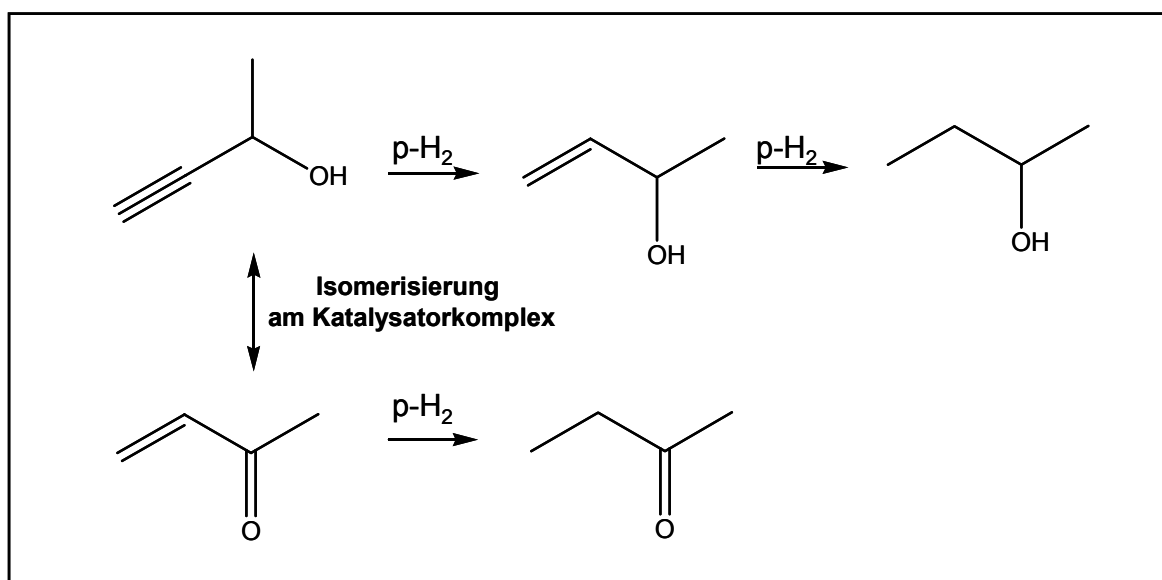


Abbildung 11-5: Isomerisierung des Propargylalkohols und mögliche Hydrierschritte bei der Umsetzung des Butin-3-ols

Die aufgezeigte Isomerisierung wird durch eine Komplexierung am eingesetzten Rhodiumkatalysator ermöglicht. Da die zusätzlichen Signale im ^{13}C -PHIP-Spektrum im olefinischen Verschiebungsbereich liegen, könnten diese tatsächlich auf die Bildung des α,β -ungesättigten Ketons durch die Isomerisierung am Katalysator zurückzuführen sein. Um diese Annahme zu beweisen, wird in einem weiteren Experiment, das in Abbildung 11-6 dargestellt ist, das gleiche, als Isomerisierungsprodukt angenommene, spinpolarisierte System durch Hydrierung einer geeigneten Vorstufe erzeugt.

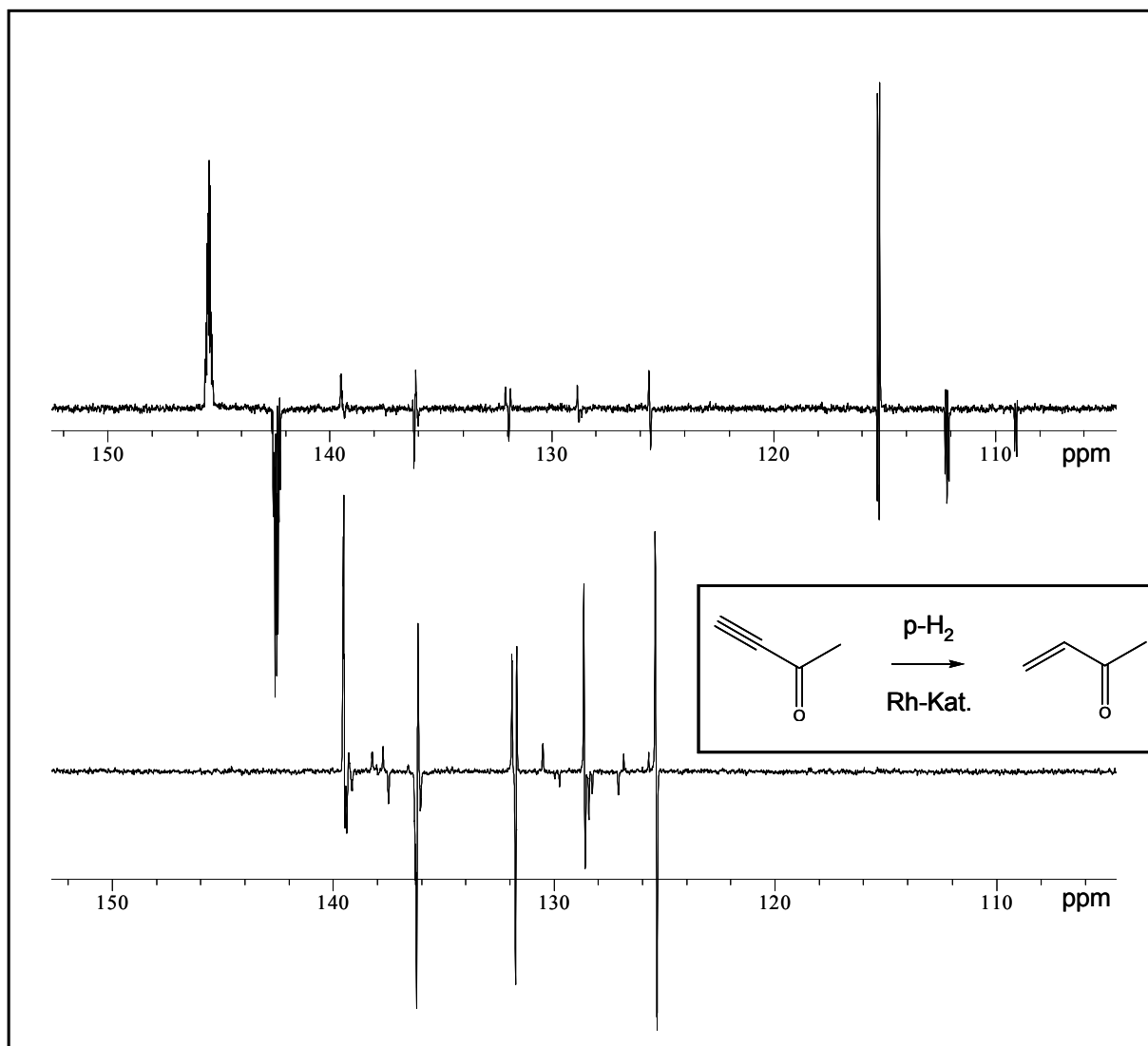


Abbildung 11-6: Hydrierreaktion zur Erzeugung des spinpolarisierten Methylvinylketons
 Oben: ^{13}C -PHIP-Spektrum der Hydrierung von Butin-3-ol
 Unten: Gleicher Ausschnitt des ^{13}C -PHIP-Spektrums der Hydrierung von Butin-3-on

Ein Vergleich der ^{13}C -Spektren, die aus den verschiedenen Experimenten erhalten wurden, zeigt eindeutig, dass die bei der Hydrierung des Butin-3-ols detektierten Zusatzsignale (oberes Spektrum in Abb. 11-6) dem spinpolarisierten Methylvinylketon zuzuordnen sind, welches die analogen Signale durch eine gezielte Erzeugung des gleichen Systems liefert (unteres Spektrum der Abb. 11-6).

Anhand dieses Experimentes kann erstmalig ein Transfer der Parawasserstoff induzierten Polarisation auf die ^{13}C -Kerne eines Spinsystems nachgewiesen werden, das nachweislich nicht über eine Hydrierreaktion gebildet wurde. Das spinpolarisierte Methylvinylketon besitzt dieselbe Summenformel wie der eingesetzte Alkohol. Dies eröffnet einen grundsätzlich neuen Zugang zu Erzeugung ^{13}C -polarisierter Substrate ohne die direkte Übertragung des Parawasserstoffs auf das entsprechende System. Die Bildung eines Reaktionsintermediats mit zeitweiliger Kopplung zu den beteiligten, polarisierten Protonen führt offensichtlich zu einem für die Detektion ausreichenden Transfer der Polarisation.

12. Einfluss der Kopplung

Die in dieser Arbeit vorgestellten Experimente und Ergebnisse zeigen, dass die Umsatzrate der betrachteten Hydrierreaktion und die Relaxationszeiten der durch die Reaktion generierten Signale für eine erfolgreiche Detektion der Polarisationsignale im ^{13}C -Kanal maßgeblich sind. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass dipolare Wechselwirkungen, die zu dem in Kapitel 5 erläuterten NOE führen, als ausschließlicher Transferweg ausgeschlossen werden können, da dem Effekt keine wesentliche Abstandsabhängigkeit nachzuweisen ist. Die Polarisation muss daher im Wesentlichen über skalare Kopplungen übertragen werden. Der Einfluss der Kopplungskonstanten auf den Polarisationstransfer in verschiedenen Spinsystemen kann unter Anwendung des so genannten Dichtematrixformalismus berechnet werden [83, 94, 95]. Die Ergebnisse dieser Berechnungen lassen darauf schließen, dass das Verhältnis der Kopplungskonstanten der betrachteten Kerne untereinander für die Effektivität des Polarisationstransfers auf den Heterokern verantwortlich ist.

Im Folgenden sollen daher zunächst die relevanten Kopplungskonstanten einiger Produktspinsysteme miteinander verglichen werden, an denen ein ausgeprägter Transfer der Polarisation nachgewiesen werden konnte.

Produktspinsystem

Propionsäureethylester:	$^3J_{\text{HH}}$: 7.5 Hz
(CH ₃)	$^1J_{\text{CH}}$: 128 Hz, $^2J_{\text{CH}}$: 4.5 Hz
(CH ₂)	$^1J_{\text{CH}}$: 128 Hz, $^2J_{\text{CH}}$: 4.5 Hz
Diethylether:	$^3J_{\text{HH}}$: 7 Hz
(CH ₃)	$^1J_{\text{CH}}$: 127 Hz, $^2J_{\text{CH}}$: 2.9 Hz
(CH ₂)	$^1J_{\text{CH}}$: 136 Hz, $^2J_{\text{CH}}$: 3.2 Hz
Dimethylsuccinat:	$^3J_{\text{HH}}$: 9.8 Hz
(CH ₂)	$^1J_{\text{CH}}$: 130 Hz, $^2J_{\text{CH}}$: 4.5 Hz
Dimethylmaleat:	$^3J_{\text{HH}}$: 12 Hz
(CH ₂)	$^1J_{\text{CH}}$: 169 Hz, $^2J_{\text{CH}}$: -2.5 Hz
1-Vinylcyclopentanol:	$^3J_{\text{HH}}$: 10.6 Hz
(CH ₂)	$^1J_{\text{CH}}$: 155 Hz, $^2J_{\text{CH}}$: nicht aufgelöst
(CH)	$^1J_{\text{CH}}$: 153 Hz, $^2J_{\text{CH}}$: nicht aufgelöst

Bei den ausgesuchten Systemen handelt es sich um Vertreter verschiedener Systemklassen. Es sind sowohl symmetrische als auch asymmetrische Systeme sowie olefinische und aliphatische Verbindungen aufgeführt. Die Variationsbreite der ermittelten Kopplungskonstanten zeigt, dass im Hinblick auf die Kopplungsverhältnisse eine magnetische Markierung nahezu jedes Spinsystems möglich sein sollte. Besonders die Tatsache, dass bei der Hydrierung zu identischen Produktspinsystemen (Kap. 8.2) in einem Fall kein detektierbarer Polarisationstransfer stattfindet, weist darauf hin, dass die Intensität der im ^{13}C -Kanal registrierten Signale in erster Linie durch die Umsatzrate bestimmt wird.

Bei der Hydrierung zu symmetrischen Doppelbindungssystemen (Dimethylmaleat) können besonders hohe Signalverstärkungen registriert werden. Eine starke Kopplung der übertragenen Protonen zueinander könnte für die Effektivität des Transfers auf die ^{13}C -Kerne maßgeblich sein. Die Durchführung der Hydrierreaktion unter ALTADENA-Bedingungen führt, wie erläutert, grundsätzlich zur Erzeugung eines stark gekoppelten AA'X-Spinsystems. Diese Tatsache liefert einen guten Erklärungsansatz für das Auftreten intensiver Polarisations Signale für die ^{13}C -Kerne unter diesen Bedingungen. Durch den Nachweis eines detektierbaren Polarisations transfers an einem asymmetrischen, schwach gekoppelten Spinsystem unter PASADENA-Bedingungen konnte in Kapitel 9 der Beweis erbracht werden, dass eine starke Kopplung der übertragenen Protonen keine notwendige Bedingung für das Auftreten dieses Effekts darstellt. Um zu überprüfen, in welchem Ausmaß der Transfer durch diese Kopplung beeinflusst wird, wurde das ALTADENA-Experiment so modifiziert, dass ein direkter Vergleich der in den verschiedenen Experimenten erhaltenen Signalintensitäten möglich ist. Für das im Folgenden geschilderte Experiment wurde ein Reaktionsgemisch mit 500×10^{-3} mmol des Acrylsäureethylesters mit 12×10^{-3} mmol der Rhodiumkatalysators in 1500 μl Aceton- d_6 angesetzt. Diese Lösung wurde anschließend auf zwei Standardprobenröhrchen verteilt, um exakt gleiche Ausgangskonzentrationen gewährleisten zu können. Im ALTADENA-Experiment erfolgte die Hydrierung außerhalb des Magnetfeldes im offenen Probenröhrchen über dieselbe Wasserstoffzuleitung wie im PASADENA-Experiment. Damit kann der gleiche Anreicherungsgrad und die gleiche Konzentration an Parawasserstoff in der Reaktionslösung vorausgesetzt werden. Für beide Messreihen wurde die gleiche Anzahl an Hydrierschritten mit einer Hydrierzeit von jeweils 10 Sekunden durchgeführt. Die Posthydrierzeit wurde im ALTADENA-Experiment mit der Stoppuhr ermittelt und für die Vergleichsmessreihe unter PASADENA-Bedingungen analog vorgegeben.

In Abbildung 12-1 sind die ^{13}C -Spektren, die im jeweiligen Experiment nach einer Gesamthydrierzeit von 80 Sekunden und einer Posthydrierzeit von 20 Sekunden erhalten wurden, gegenübergestellt. Aufgrund der unterschiedlichen Phasenlage der Signale sind die Spektren zum besseren Vergleich im "magnitude mode" dargestellt. Diese Darstellungsmöglichkeit im Spektrenbearbeitungsprogramm Mestrec führt zur Invertierung sämtlicher negativer Signale im Messbereich. Da für beide Messreihen identische Spektrometereinstellungen verwendet wurden, können die Intensitäten der erhaltenen Signale direkt miteinander verglichen werden.

Das Lösungsmittelsignal bei einer Verschiebung von 29.4 ppm weist im Falle des ALTADENA-Experimentes eine etwas geringere Intensität auf, da sich die Probe zum Zeitpunkt der Detektion erst kurze Zeit unter dem Einfluss des für die Entwicklung der detektierbaren Magnetisierung verantwortlichen Messfeldes befunden hat.

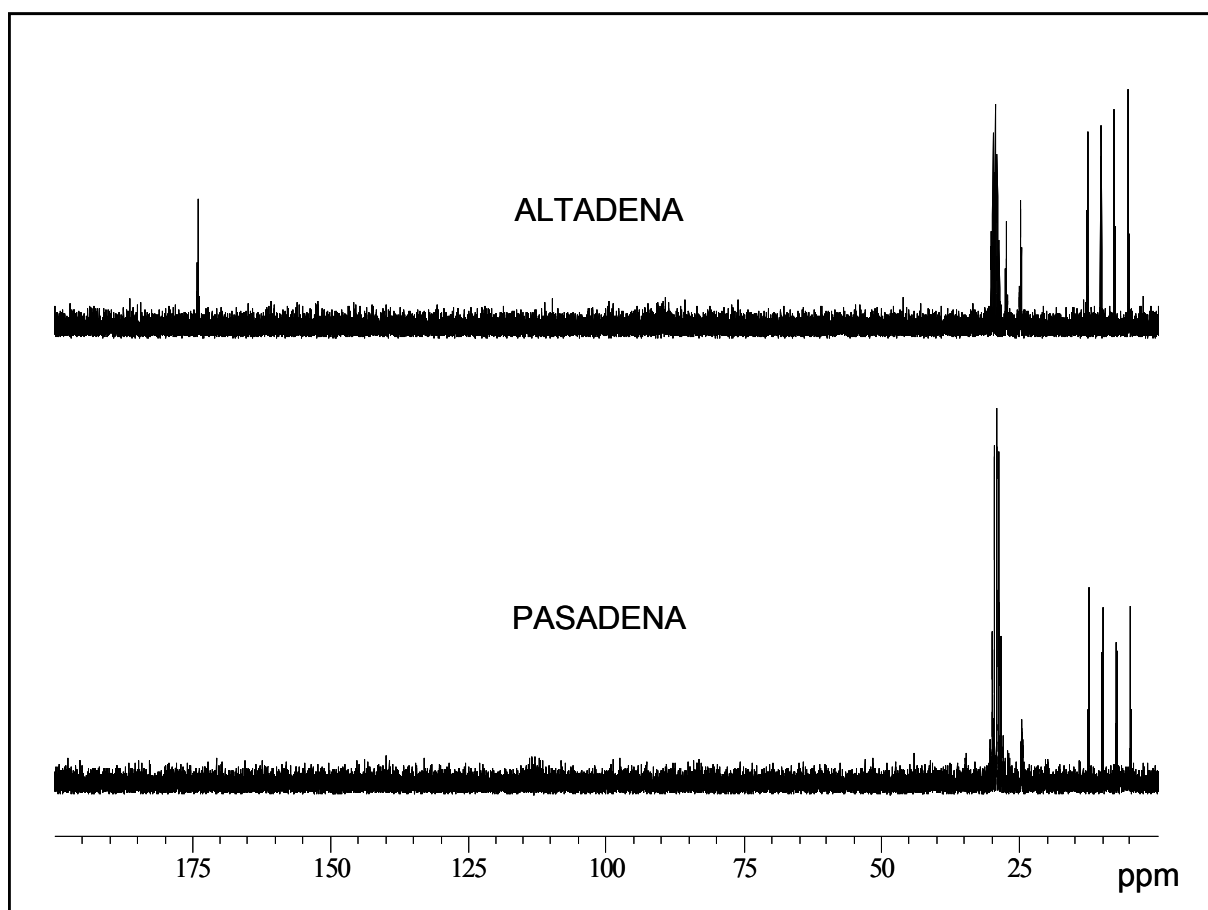


Abbildung 12-1: ^{13}C -Magnitude-Spektren des spinpolarisierten Propionsäureethylesters bei Reaktionsführung im schwachen (ALTADENA) und im starken (PASADENA) Magnetfeld

Ein Vergleich der ^{13}C -Polarisationssignale zeigt erstaunlicherweise analoge Signalintensitäten für die Methylgruppe des polarisierten Propionsäureesters. Das Triplett der Methylengruppe, das bei einer Verschiebung von 27.5 ppm teilweise vom Lösungsmittelsignal überlagert wird, erscheint bei der Hydrierung im starken Magnetfeld mit deutlich geringerer Intensität. Das Signal der Carbonylgruppe schließlich ist bei der Experimentführung unter PASADENA-Bedingungen offensichtlich nicht mehr detektierbar.

Die starke Kopplung der übertragenen Protonen im schwachen Feld hat also offensichtlich einen unterschiedlichen Einfluss auf den Transfer der Polarisation bei verschiedenen ^{13}C -Kernen. Da ein Polarisationstransfer auf die Carbonylgruppe unter PASADENA-Bedingungen bei einer kurzen Posthydrierzeit von 3 Sekunden nachgewiesen werden konnte (Kap. 9.1), liegt es nahe, dass Relaxationsphänomene für den beobachteten Effekt verantwortlich sind. Eine starke Kopplung der übertragenen Protonen kann wie beschrieben zu einer deutlichen Verlängerung der Relaxationszeiten der zugehörigen Polarisationssignale führen [48]. Ein entsprechender Effekt kann jedoch zur Klärung des unterschiedlichen Verhaltens der einzelnen Signalgruppen im ^{13}C -Spektrum nicht herangezogen werden, da er sich in gleicher Weise auswirken sollte. Das Experiment stellt daher einen guten Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen dar.

Die Signalmuster der im Zuge dieser Arbeit detektierten ^{13}C -Polarisationssignale zeigen eine deutliche Abhängigkeit vom untersuchten Spinsystem. Ein Vergleich der Phasenlage sowie der Intensitätsverteilung der einzelnen Signale analoger Gruppierungen zeigt auffällige Unterschiede. Eine Systematik, wie sie für die entsprechenden Signale der polarisierten Protonen festgestellt werden kann, ist hier nicht zu erkennen. Es ist daher schwierig, anhand der Signalmuster Rückschlüsse auf die Besetzung bestimmter Kernspinzustände zu ziehen. Als Beispiel sind in Abbildung 12-2 die Signalmuster analoger Gruppierungen, die für die dargestellten Spinsysteme detektiert wurden, gezeigt.

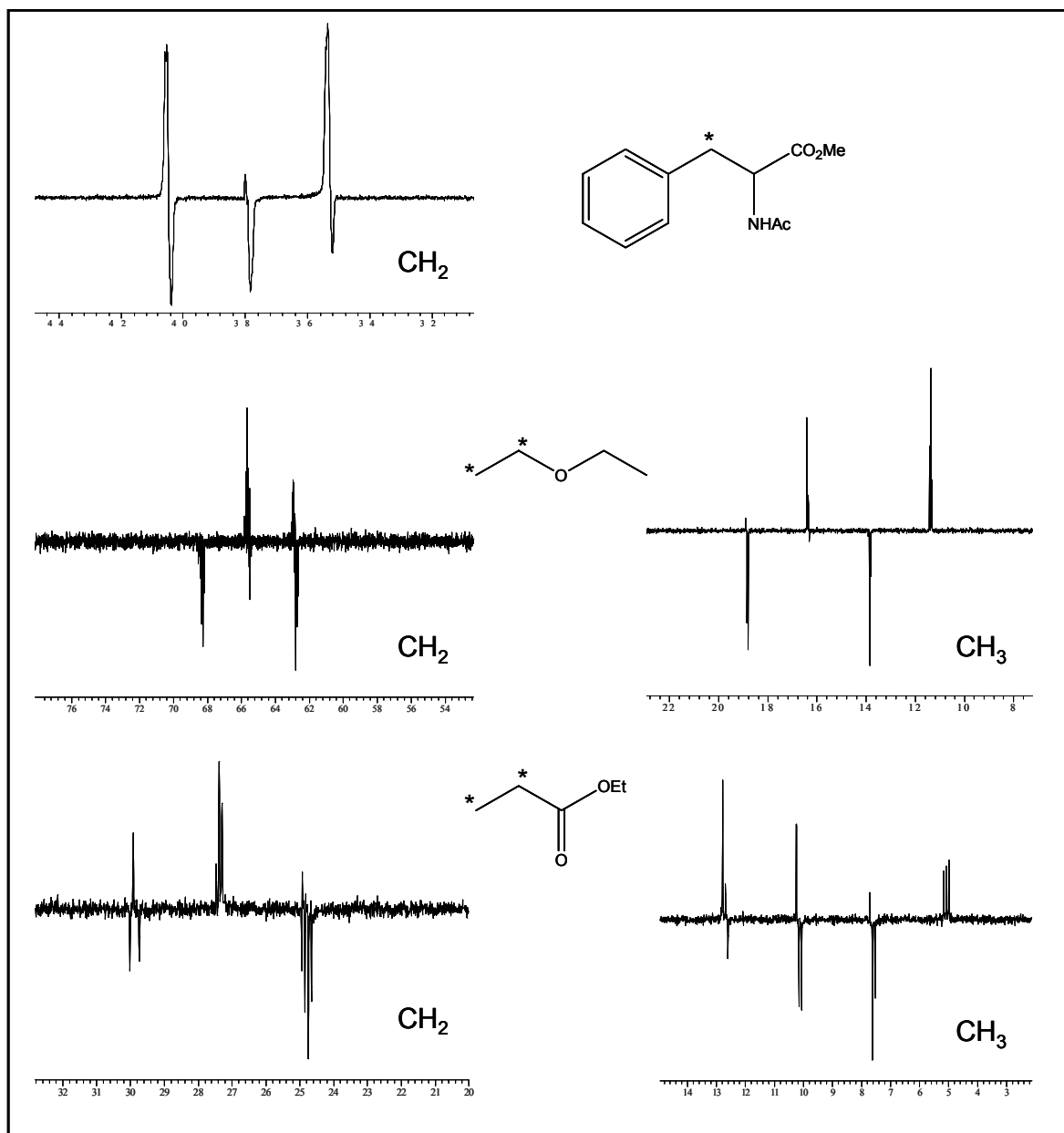


Abbildung 12-2: ^{13}C -Signalmuster einzelner Gruppierungen der abgebildeten Produktsysteme

Die Intensitätsverteilungen und Phasenlagen der Signale werden offenbar in starkem Maße von den entsprechenden Kopplungskonstanten der unterschiedlichen Produktsysteme diktiert. Die $^1\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen sowie die $^3\text{J}_{\text{HH}}$ -Kopplungen der verschiedenen Systeme haben grundsätzlich ein positives Vorzeichen und liegen in vergleichbaren Größenordnungen. Die $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen können jedoch, abhängig von der Struktur des Systems, große Unterschiede aufweisen, was sich sowohl in der Größe als auch im Vorzeichen der jeweiligen Kopplungskonstanten widerspiegelt [7].

Um den Einfluss dieser Kopplung auf das Signalmuster zu verdeutlichen, wurde das Simulationsprogramm DYPAS 2 zum Einsatz gebracht [96].

Dieses Programm bietet eine Vielzahl von Simulationsarten und erlaubt die Berechnung von Polarisationsmustern bzw. zeitlichen Intensitätsverläufen von Spektren, die während der Hydrierung mit Parawasserstoff oder mit Orthodeuterium aufgenommen werden. Das Programm beruht auf dem Dichtematrixformalismus. Zur Simulation eines Spektrums muss daher zunächst eine Startdichtematrix erstellt werden, die alle Informationen über das betrachtete Spinsystem enthält, wie zum Beispiel die Raumkoordinaten, die Verschiebungen und die Kopplungen der beteiligten Kerne. Anschließend wird die zeitliche Entwicklung der Spindichtematrix berechnet, und das resultierende Spektrum kann in Form von Datenpunkten mit Hilfe eines entsprechenden Programms wie Origin7G dargestellt werden. Die für diese Simulationen verwendeten Parameter zur Aufstellung der Startdichtematrix sind der folgenden Auflistung zusammengefasst.

Simulationsdaten

Korrelationszeit $\tau = 0,00116$ ns

Spin Parameter	Spin Nr.1:	^1H	ppm:	1.1
	Spin Nr.2:	^1H	ppm:	3.4
	Spin Nr.3	^1H	ppm:	1.1
	Spin Nr.4	^{13}C	ppm:	60

Kopplungen [Hz]	$J_{1,2} = 7.1$	$J_{1,3} = 0$	$J_{2,3} = 7.1$	$J_{3,4} = 120$
	$J_{2,4} = \text{wird variiert}$			

Spin-Koordinaten

Spin Nr.	x	y	z
1	1.999	-2.793	0.061
2	1.620	-0.476	0.974
3	0.423	-2.703	-0.844
4	0.974	-2.351	0.061

(Die Koordinaten wurden mittels des Programms HyperChem ermittelt)

Die aufgelisteten Daten beziehen sich zur Vereinfachung auf ein imaginäres 4-Spinsystem. Die Raumkoordinaten und Korrelationszeiten können jedoch nicht für einen Teilbaustein, sondern nur für ein ganzes Molekül bestimmt werden. Als Beispielsystem für diese Berechnungen diene hier der Diethylether.

Da hier nur der Einfluss der $^2J_{\text{CH}}$ -Kopplungskonstanten auf ein beliebiges Spinsystem untersucht wird, werden die im reellen System auftretenden Kopplungen, deren Anzahl die hier berücksichtigten übersteigt, außer Acht gelassen. In Abbildung 12-3 sind die Simulationsergebnisse für das Triplet einer CH_2 -Gruppierung bei Variation der $^2J_{\text{CH}}$ -Kopplung ($J_{2,4}$) dargestellt.

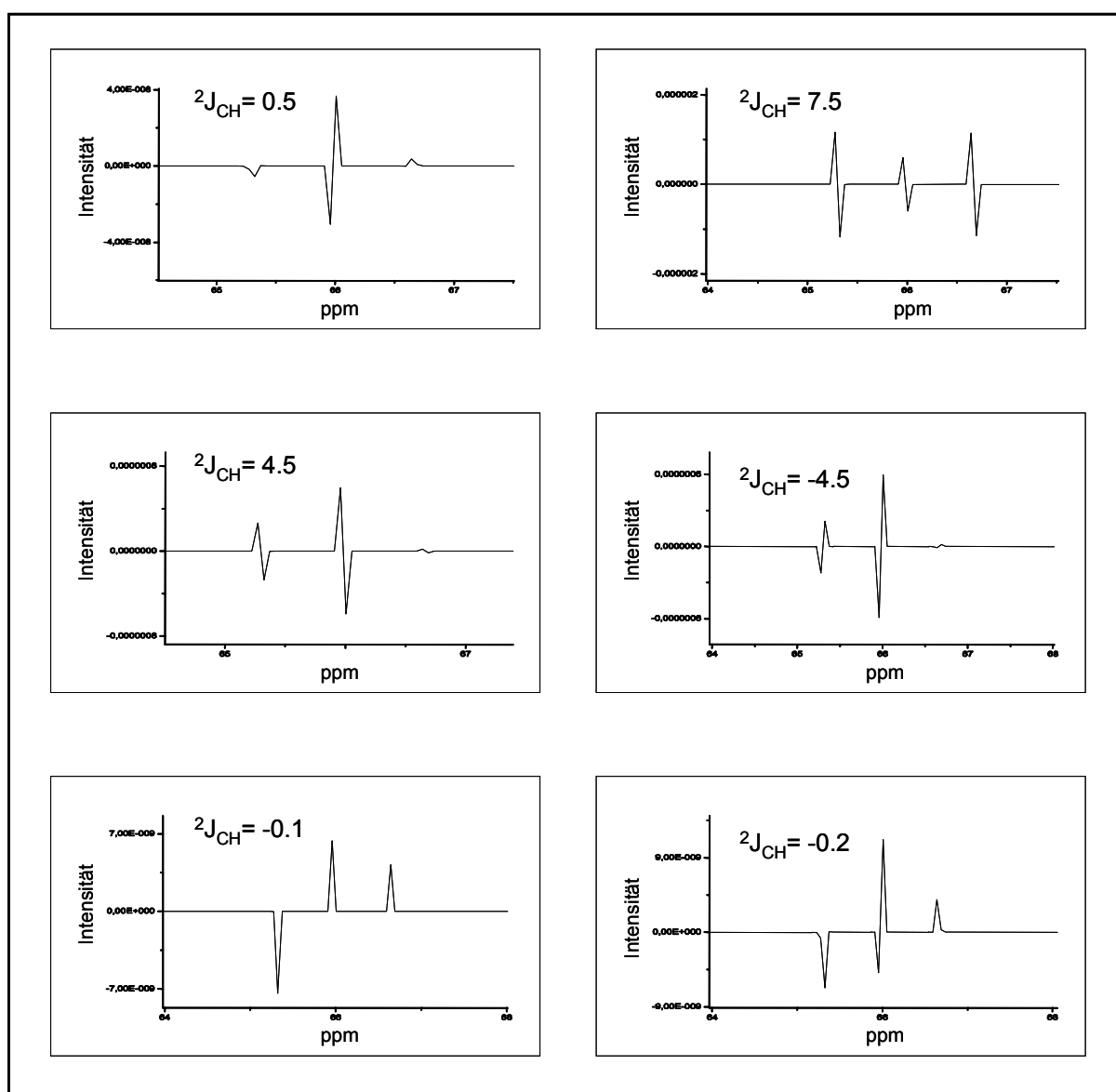


Abbildung 12-3: *Simulierte ^{13}C -Signalmuster einer CH_2 -Gruppierung in Abhängigkeit von der $^2J_{\text{CH}}$ -Kopplungskonstanten*

Ein Vergleich der erhaltenen Ergebnisse zeigt eindeutig eine Abhängigkeit sowohl der Intensität der erhaltenen Signale als auch der Kopplungsmuster von der Größe und dem Vorzeichen dieser Konstanten.

Das zum Teil völlig unterschiedliche Erscheinungsbild der ^{13}C -Polarisationssignale in den experimentell erzeugten Spektren lässt sich anhand dieser Betrachtung gut nachvollziehen.

Das L-DOPA analoge Spinsystem, das durch die Hydrierung des ^{13}C -markierten α -Acetamidozimtsäuremethylesters erzeugt wurde (Kap. 8.2), stellt ein bezüglich der auftretenden Kopplungen überschaubares System dar. Im Folgenden wurde daher eine analoge Simulation dieses Spektrums mit den daraus ermittelten, unten aufgeführten Daten durchgeführt.

Simulationsdaten

Korrelationszeit $\tau = 0.0374$ ns

Spin Parameter	Spin Nr.1:	^1H	ppm:	3.12
	Spin Nr.2:	^1H	ppm:	4.65
	Spin Nr.3	^1H	ppm:	2.93
	Spin Nr.4	^{13}C	ppm:	38

Kopplungen [Hz]	$J_{1,2} = 5.9$	$J_{1,3} = 13.8$	$J_{2,3} = 8.8$	$J_{2,4} = 8$	$J_{3,4} = 130$
-----------------	-----------------	------------------	-----------------	---------------	-----------------

Spin-Koordinaten

Spin Nr.	x	y	z
1	-0.934	1.026	0.349
2	-1.517	-1.343	-0.536
3	0.184	-1.456	-1.160
4	-0.462	-0.988	-0.366

Das Ergebnis dieser Simulation ist mit der Struktur des berechneten Spinsystems und der Kennzeichnung des betreffenden ^{13}C -Kerns in Abbildung 12-4 dargestellt.

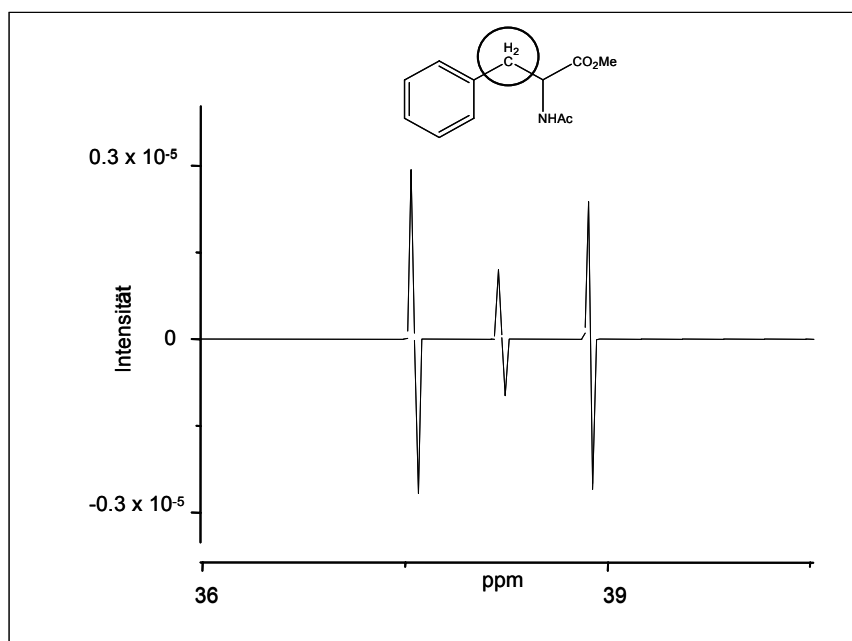


Abbildung 12-4 *Simuliertes Spektrum der CH₂-Gruppierung des Hydrierproduktes des α -Acetamidocinnensäuremethylesters*

Ein Vergleich dieser Simulation mit dem für das ^{13}C -markierte Spinsystem erhaltenen Spektrum (Abbildung 8.2-8) zeigt eine gute Übereinstimmung. Für den Polarisationstransfer sind damit neben den Umsatzraten und den Relaxationszeiten die Kopplungen der beteiligten Kerne ausschlaggebend, die sich in unterschiedlicher Weise auf die erhaltenen Signalmuster auswirken.

13. Experimentelles

Alle in dieser Arbeit vorgestellten NMR-Experimente wurden mit Hilfe eines Bruker Avance DRX 200 NMR-Spektrometers durchgeführt. Die Feldstärke dieses Spektrometers liegt bei 4.66 Tesla, woraus sich für Protonen eine Resonanzfrequenz von 200 MHz und für ^{13}C -Kerne von 50 MHz ergibt.

13.1 Parawasserstoffanreicherung

Für die Anreicherung des für diese Arbeit verwendeten Parawasserstoffes kamen zwei verschiedene Anreicherungsanlagen zum Einsatz.

Über eine so genannte U-Rohr-Anreicherungsanlage (Abb. 13.1) wird eine Anreicherung des Parawasserstoffes von ca. 50% erreicht. Der konventionelle Wasserstoff aus einer Druckgasflasche der Firma "Air Products" wird hier durch ein mit Aktivkohle gefülltes U-Rohr geleitet. Dieses U-Rohr wird durch Eintauchen in ein mit flüssigem Stickstoff gefülltes Dewargefäß auf -196°C abgekühlt. Der angereicherte Parawasserstoff kann dann nach einer für die Gleichgewichtseinstellung genügenden Zeit über ein Ventil entnommen werden.

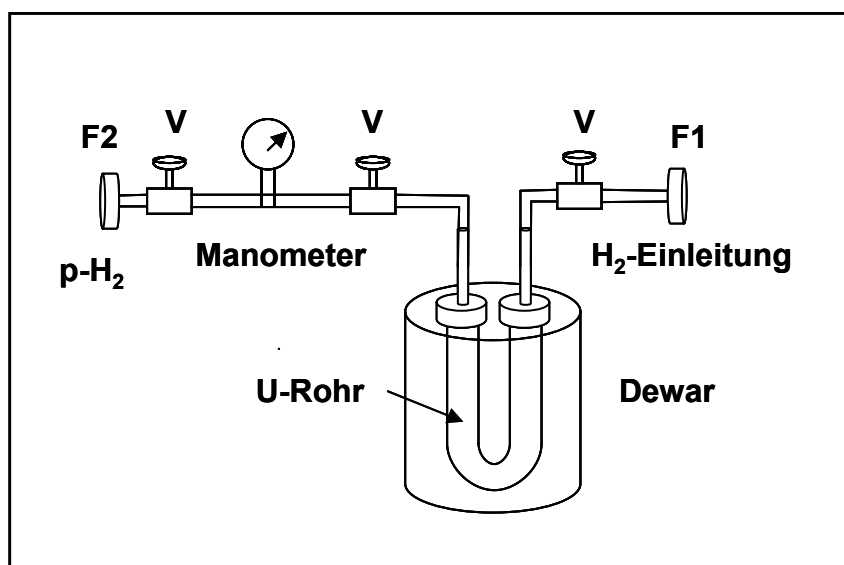


Abbildung 13.1: Schematische Darstellung der U-Rohr-Anreicherungsanlage

Der Wasserstoff gelangt über einen Flansch F1 in die Anreicherungsanlage und kann schließlich über F2 entnommen werden. An diesen Flansch wird dann, für Experimente unter ALTADENA-Bedingungen (Kap. 14.2), ein Teflonschlauch angeschlossen, an dessen Ende sich eine Kanüle befindet. Diese Anlage gestattet das Arbeiten mit einem Wasserstoffdruck von bis zu 25 bar.

Ein höherer Anreicherungsgrad an Parawasserstoff von bis zu 97% wird hingegen mit einer Anlage der Firma Oxford erzielt. Die Anreicherung erfolgt hier nach dem gleichen Prinzip, ist jedoch durch eine Kühlung des eingeleiteten Wasserstoffs auf -238°C (35 K) um einiges effektiver. Zur Kühlung der Anlage dient Helium, welches mit Hilfe eines Kryostaten der Firma Edwards (Modell CS2/9) auf einen Druck von 16,5 bar komprimiert und dann der eigentlichen Anreicherungsanlage zugeführt wird. Die Anlage verfügt über zwei Kühlstufen. In der ersten Kühlstufe wird der Wasserstoff zunächst mittels einer Kapillare durch einen Kupferblock geleitet, der durch die Expansion des vorkomprimierten Heliums auf ca. 50 K gekühlt wird. In der zweiten Kühlstufe befindet sich eine Aktivkohlezelle, innerhalb derer die eigentliche Anreicherung dann bei 35 K stattfindet. Diese Kühlstufe ist zusätzlich mit einem Temperatursensor und einem Heizelement versehen, so dass prinzipiell in einem Temperaturbereich von 10-300 K gearbeitet werden kann, was grundsätzlich verschiedene Anreicherungsgrade zur Folge hat. Im Zuge dieser Arbeit wurde jedoch ausschließlich mit einer Anreicherungstemperatur von 35 K gearbeitet. Die Anlage verträgt einen maximalen Wasserstoffdruck von 3 bar und wurde daher vorwiegend für Messungen unter PASADENA-Bedingungen (13.2) herangezogen.

13.2 PASADENA- und ALTADENA-Experimente

Für Messungen unter ALTADENA-Bedingungen werden grundsätzlich (Ausnahme Kap. 12) spezielle NMR-Probenröhrchen verwendet, die einem Druck von bis zu 5 bar standhalten können. Die Verschlusskappen dieser Röhrchen enthalten ein Septum, das die Einleitung von Parawasserstoff über eine Kanüle ermöglicht. Auf diese Weise kann ein relativ hoher Wasserstoffdruck über der Reaktionslösung erzeugt werden, der dann durch kräftiges Schütteln der Probe zu entsprechend hohen Umsatzraten führt. Zur Anreicherung wird daher standardmäßig die U-Rohr-Anlage verwendet, da diese für das Arbeiten bei erhöhtem Druck gut geeignet ist.

Bei PASADENA-Experimenten erfolgt die Hydrierung der angesetzten Probe innerhalb des Spektrometers. Dazu wird ein Standard-NMR-Probenröhrchen, das die Reaktionslösung enthält, über ein Verbindungsstück aus Teflon an ein Glasrohr befestigt und in das Spektrometer eingesetzt. Dieses Glasrohr dient als Führung für eine Glaskapillare, durch die der Parawasserstoff dann direkt in die Reaktionslösung eingeleitet wird (Abb. 13-2).

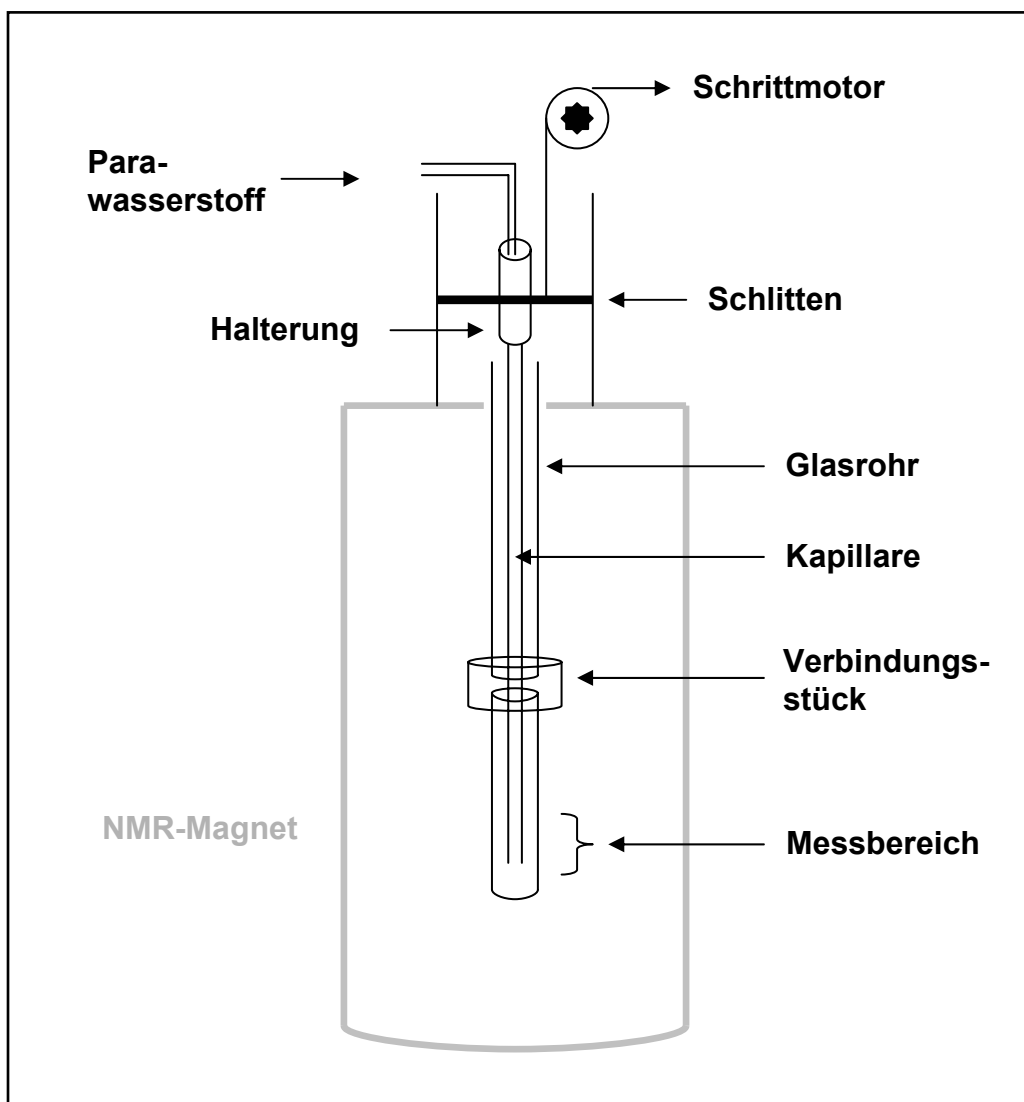


Abbildung 13.2: Darstellung der Hydriervorrichtung für PASADENA-Experimente

Der Parawasserstoff gelangt zunächst von der Anreicherungsanlage über eine Kupferleitung bis zu einem Ventil. Von dort aus wird er über einen Teflonschlauch in die Glaskapillare (Abb. 13.2) geleitet, die in eine Hebevorrichtung mit absenkbarem Schlitten fixiert werden kann.

Die Kapillare wird dann so justiert, dass sie bei Absenkung des Schlittens über einen Schrittmotor in die Reaktionslösung hineinreicht. Der Schrittmotor sowie das Ventil können über den Messrechner gesteuert werden, so dass bei Absenken der Kapillare in die Lösung automatisch das Ventil geöffnet wird. Dieser Aufbau gestattet das Arbeiten mit genau definierten Hydrierzeiten. Der erste Detektionspuls kann dann bereits eine Sekunde nach Entfernen der Kapillare gesetzt werden, wenn sich die Reaktionslösung nach dem Einleiten des Wasserstoffs wieder beruhigt hat.

Zur Durchführung von PASADENA-Experimenten kommt, im Zuge dieser Arbeit, ausschließlich die Oxford-Anreicherungsanlage zum Einsatz, da das Arbeiten mit einem hohen Wasserstoffdruck durch die Einleitung in das offene Probenröhrchen nicht möglich ist. Ein möglichst hoher Anreicherungsgrad stellt hier das maßgebende Kriterium dar.

13.3 Probenvorbereitung

Für die PHIP-Experimente werden in einem Standard-NMR-Probenröhrchen der Firma Schott (PASADENA), oder einem Druck-Probenröhrchen WPS 500 der Firma Wilmad jeweils 750 µl des deuterierten Lösungsmittels vorgelegt, entgast und unter Argonatmosphäre belassen. Je nach Experiment wird dann eine bestimmte Menge des umzusetzenden Substrats zugegeben, vollständig gelöst und zur Überprüfung der Reinheit zunächst ein Standard-NMR-Spektrum aufgenommen. Anschließend werden der Probenlösung $5,5 \times 10^{-3}$ mmol des eingesetzten Katalysators Rhodium(I)-[1,4-bis-(diphenylphosphino)butan]-(1Z,5Z-cyclooctadien)-tetrafluoroborat hinzugegeben. Es entsteht eine orange-gelbe Lösung, die sofort umgesetzt werden kann.

14. Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde die PHIP-NMR-Spektroskopie als Verfahren zur magnetischen Markierung ausgesuchter Substrate herangezogen.

Im Hinblick auf eine Anwendung dieses Verfahrens zur Empfindlichkeitssteigerung in der Magnetresonanztomographie kommt dem Transfer der durch den PHIP-Effekt generierten Polarisation von den übertragenen Protonen auf die ^{13}C -Kerne des entsprechenden Substrates ein besonderer Stellenwert zu.

Ziel dieser Arbeit war es, verschiedene Parameter zu erfassen, die einen Einfluss auf diesen Polarisationstransfer ausüben. Bedingt durch die Tatsache, dass eine aus dem PHIP-Effekt resultierende Signalverstärkung für die ^{13}C -Kerne polarisierter Substrate bisher nur an wenigen Verbindungen dokumentiert ist, sollte zunächst ein erfolgreicher Polarisationstransfer für weitere Systeme nachgewiesen werden. Auf diese Weise sollten Methoden gefunden werden, den Einfluss verschiedener struktur- und reaktionsbedingter Parameter auf einen effektiven Polarisationstransfer zu untersuchen. Die erzielten Ergebnisse sollten dann genutzt werden, die Möglichkeit eines solchen Transfers an Strukturen zu überprüfen, die physiologisch aktiven Substraten entsprechen.

Anhand der durchgeführten Untersuchungen wurde die Liste der Strukturen, an denen ein effektiver Transfer der Polarisation auf den ^{13}C -Kern nachgewiesen werden kann, deutlich erweitert.

In Bestätigung zu vorangegangenen Experimenten [81] hat sich gezeigt, dass eine Verteilung der Polarisation über das gesamte Molekülgerüst erfolgt. Die erhaltenen Signalintensitäten korrelieren nicht mit dem Abstand des betreffenden Kerns vom Hydrierzentrum, sondern mit den Relaxationszeiten und den entsprechenden skalaren Kopplungen. Der Kern-Overhauser-Effekt kann damit für den Transfer der Polarisation auf die Kohlenstoffkerne nicht hauptverantwortlich sein. Die auftretenden Signalmuster werden in entscheidendem Maße von den auftretenden Kopplungen beeinflusst, was sich sowohl in der Phasenlage als auch in den Intensitäten der erhaltenen Signale widerspiegelt. Neben den Kopplungsverhältnissen, die in den erfolgreich markierten Systemen deutliche Unterschiede zeigen, können zwei weitere Faktoren als wesentliche Basis für die Detektion des untersuchten Effektes herausgestellt werden.

Lange Relaxationszeiten für die Signale bestimmter Gruppierungen gestatten die Detektion hoher Signalintensitäten auch für weniger stark gekoppelte Kerne, was sich besonders positiv auf Carbonyl- oder quartäre Kohlenstoffkerne auswirkt.

Die Untersuchungen zeigen auch, dass der Umsatzrate bei der die Polarisation generierenden Hydrierreaktion eine grundsätzliche Bedeutung zukommt. Für weiterführende Untersuchungen empfiehlt sich daher die Reaktionsführung bei erhöhter Temperatur und gesteigertem Wasserstoffdruck.

Durch den Beweis eines durchaus effektiven Transfers der Polarisation an einem asymmetrischen, schwach gekoppelten Spinsystem im starken Magnetfeld wird der wesentliche Beitrag einer hohen Umsatzrate bei der Hydrierung des Acrylsäureethylesters herausgestellt. So konnte erstmalig der Einfluss des eingesetzten Lösungsmittels auf den Polarisationstransfer unter reproduzierbaren Bedingungen untersucht werden. Für ein gegebenes Spinsystem sind die erzielten Verstärkungsfaktoren der Signale für die übertragenen Protonen direkt mit den Intensitäten der ^{13}C -Polarisationssignale verknüpft. Des Weiteren hat sich der Einsatz von Ethanol als Lösungsmittel für dieses Markierungsverfahren als durchaus förderlich erwiesen. Da es sich hierbei um ein, in gewissen Konzentrationen, physiologisch verträgliches Reaktionsmedium handelt, kann so, im Hinblick auf die Anwendung des Verfahrens, eine gute Alternative zur Reaktionsführung im wässrigen Medium aufgezeigt werden.

Durch die gewonnenen Erkenntnisse zum Einfluss der Umsatzrate bei der für das Verfahren grundlegenden Hydrierreaktion kann eine Möglichkeit zur magnetischen Markierung einer der Valproinsäure nahe liegenden Teilstruktur aufgezeigt werden. Der Nachweis eines Polarisationstransfers auf eine freie Carboxylfunktion über mehrere Bindungen hinweg stellt einen viel versprechenden Ansatz zur erfolgreichen Erzeugung eines ^{13}C -polarisierten Substrates dar, das in der Lage ist, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Neben diesem Valproat-Teilbaustein konnte ein Polarisationstransfer auch an weiteren Systemen nachgewiesen werden, deren Struktur den in Kapitel 7 vorgestellten Targetsystemen sehr nahe kommt.

In weiterführenden Experimenten sollte man so durch den Einsatz geeigneter, in dieser Arbeit aufgezeigter Vorstufen zu einer erfolgreichen magnetischen Markierung verschiedener, physiologisch aktiver Substrate wie zum Beispiel der Profenderivate gelangen.

Mit dem Nachweis eines effektiven Polarisationstransfers auf die ^{13}C -Kerne des Diethylethers kann in dieser Arbeit erstmalig ein physiologisch aktives, magnetisch markiertes Substrat vorgestellt werden. Sowohl die erzielten Signalverstärkungen als auch die registrierte "Überlebensdauer" der erhaltenen Polarisationssignale zeigen die gute Anwendbarkeit dieses Systems für tomographische Untersuchungen.

Die Ermittlung der Relaxationszeiten für die Polarisationssignale der übertragenen Protonen zeigt, besonders im Falle des Diethylethers und des Valproatbausteins, eine weitere Alternative im Hinblick auf den Einsatz dieses Markierungsverfahrens auf. Diese Relaxationszeiten liegen in einer Größenordnung, die für eine Anwendung in der Tomographie ausreichend sein sollte.

Im Zusammenhang mit dem Transfer der Polarisation auf den ^{13}C -Kern kann in dieser Arbeit nachgewiesen werden, dass dieser unter bestimmten Bedingungen auch ohne eine Übertragung des Parawasserstoffs auf das Substrat erfolgen kann. Eine zeitweise Kopplung der im Spinsystem enthaltenen ^{13}C -Kerne zu den polarisierten Protonen am Katalysatorkomplex kann bereits zu einem Polarisationstransfer führen.

Da in dieser Arbeit die Möglichkeit zur Erzeugung magnetisch markierter, physiologisch aktiver Substrate mit Hilfe des untersuchten Verfahrens unter Beweis gestellt werden konnte, sollten weiterführende Untersuchungen zum Ziel haben, ein für die Polarisationserzeugung notwendiges Katalysatorsystem zu finden, welches leicht vom Reaktionsgemisch abtrennbar ist. Mit dem Auffinden eines geeigneten zum Beispiel immobilisierten Katalysators, der gute Umsatzraten ermöglicht, sollte dieses Verfahren in der MRT bald eine effektive Anwendung finden.

15. Literaturverzeichnis

- [1] E. M. Purcell, H. C. Torrey, R. V. Pound, *Phys. Rev.* **1946**, 69, 37-38
- [2] F. Bloch, W. W. Hansen, M. Packard, *Phys. Rev.* **1946**, 70, 474-485
- [3] R. R. Ernst, G. Bodenhausen, A. Wokaun, "*Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*", Clarendon Press, Oxford, **1987**
- [4] A. Abragam, "*The Principles of Nuclear Magnetism*", Oxford University Press, New York, **1961**
- [5] H. Günther, "*NMR-Spektroskopie*", Georg Thieme Verlag, Stuttgart **1992**
- [6] A. E. Derome, "*Modern NMR-Technics for Chemical Research*", Pergamon Press, London, **1988**
- [7] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, "*Spektroskopische Methoden in der Chemie*", Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1991**
- [8] J. Cavanagh, W. J. Fairbrother, A. G. Palmer III, N. J. Shelton, "*Protein NMR Spectroscopy – Principles and Practice*", Academic Press, London, **1996**
- [9] S. J. Opella, A. Nevzorov, M. F. Mesleb, F. M. Marassi, *Biochem. Cell. Biol.* **2002**, 80 (5), 597-604
- [10] H. J. Dyson, P. E. Wright, *Annu. Rev. Phys. Chem.* 1996, 47, 369-395
- [11] G. Wider, *Bio Techniques* **2000**, 29, 1278-1294
- [12] P. C. Lauterbur, *Nature* **1973**, 242, 190-191
- [13] C. Boesch, *Labor und Medizin* **1997**, 24, 245-253
- [14] O. Gonen, A. Mohebbi, R. Stoyanova, T. R. Brown, *Magn. Reson. Med.* **1997**, 37, 301-306
- [15] H. Watanabe, M. Umeda, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu, Y. Tsukada, *Magn. Reson. Med.* **2000**, 43, 525-533
- [16] H. R. Wei, H. Merkle, Y. Xu, J. Ellermann, K. Sipprell, K. Ugurbil, *Magn. Reson. Med.* **1997**, 37, 327-330
- [17] J. W. Pan, G. F. Mason, G. M. Pohost, H. P. Hetherington, *Magn. Reson. Med.* **1996**, 36(1), 7-12
- [18] M. K. Sammi, J. W. Pan, F. W. Telang, D. Schuhlein, P. E. Molina, N. D. Volkow, C. S. Springer, H. P. Hetherington, *Magn. Reson. Med.* **2000**, 44, 35-40

- [19] T. Inubushi, S. Morikawa, K. Kito, T. Arai, *Biochem. Bioph. Res. Com.* **1993**, *191* (3), 866-872
- [20] J. R. Griffiths, J. D. Glickson, *Adv. Drug. Deliver. Rev.* **2000**, *41* (1), 75-89
- [21] W. Schreiber, R. Surkau, *Phys. Bl.* **1999**, *55* (5), 45-47
- [22] J. Becker, J. Bermuth, M. Ebert, T. Grossmann, W. Heil, D. Hofmann, H. Humblot, M. Leduc, E. W. Otten, D. Rohe, R. Surkau, *Nucl. Instr. and Meth. A* **1998**, *402*, 327-336
- [23] R. R. Rizi, J. E. Baumgardner, M. Ishii, Z. Z. Spector, J. Edvinsson, A. Jalali, J. Yu, M. Itkin, D. A. Lipson, W. Geftter, *Magn. Reson. Med.* **2004**, *52*, 65-72
- [24] a) J. Bargon, H. Fischer, U. Johnsen, *Z. Naturforschg. A* **1967**, *22*, 1551-1555;
b) J. Bargon, H. Fischer, *Z. Naturforschg. A* **1967**, *22*, 1556-1562
- [25] H. Fischer, J. Bargon, *Acc. Chem. Res.* **1969**, *2*, 110-114
- [26] J. H. Ardenkjær-Larsen, B. Fridlund, A. Gram, G. Hansson, L. Hansson, M. H. Lerche, R. Servin, M. Thaning, K. Golman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100* (18), 10158-10163
- [27] C. R. Bowers, D. P. Weitekamp, *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *57*, 2645-2648
- [28] C. R. Bowers, D. P. Weitekamp, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5541-5542
- [29] T. C. Eisenschmid, R. U. Kirss, P. P. Deutsch, S. I. Hommeltoft, R. Eisenberg, J. Bargon, R. G. Lawler, A. L. Balch, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 8089-8091
- [30] J. Bargon, J. Kandels, K. Woelk, *Z. Phys. Chem.* **1993**, *180*, 65-93
- [31] J. Natterer, J. Bargon, *Progr. NMR Spectrosc.* **1997**, *31*, 293-315
- [32] G. F. Mason, K. L. Behar, J. C. K. Lai, *Metab. Brain Dis.* **1996**, *11*(4), 283-303
- [33] Q. He, D. C. Shungu, P. C. M. van Zijl, Z. M. Bhujwalla, J. D. Glickson, *J. Magn. Reson. B* **1995**, *106*, 203-211
- [34] J. Constantinidis, J. C. Chatham, J. P. Wehrle, J. D. Glickson, *Magn. Reson. Med.* **1991**, *20*, 17-26
- [35] D. Artemov, Z. M. Bhujwalla, R. J. Maxwell, J. R. Griffiths, I. R. Judson, M. O. Leach, J. D. Glickson, *Magn. Reson. Med.* **1995**, *34* (3), 338-342
- [36] G. A. Morris, R. Freeman, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 760-762
- [37] D. M. Doddrell, D. T. Pegg, M. R. Bendall, *J. Magn. Reson.* **1982**, *48*, 323-327
- [38] T. C. Eisenschmid, J. McDonald, R. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7267-7269

- [39] J. Barkemeyer, M. Haake, J. Bargon, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (10), 2927-2928
- [40] K. Golman, O. Axelsson, H. Johannesson, S. Mansson, C. Olofsson, J. S. Petersson, *Magn. Reson. Med.* **2001**, *46*, 1-5
- [41] P. F. Seidler, H. E. Bryndza, J. E. Frommer, L. S. Stuhl, R. G. Bergman, *Organometallics*, **1983**, *2*, 1701-1705
- [42] M. G. Pravica, D. P. Weitekamp, *Chem. Phys. Lett.* **1988**, *145*, 255-258
- [43] A. F. Hollemann, E. Wiberg, "*Lehrbuch der Anorganischen Chemie*", Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin, **1985**
- [44] P. Atkins, "*Physikalische Chemie*", VCH, Weinheim, **1987**
- [45] K. F. Bonhoeffer, P. Harteck, *Z. Phys. Chem.* **1929**, *B4*, 113-141
- [46] K. Woelk, J. Bargon, *Z. Phys. Chem.* **1993**, *180*, 65-93
- [47] J. Bargon, R. Fligg, *Oxford Research Matters* **2000**, *12*, 7
- [48] T. Jonischkeit, *Dissertation* **2004**, Universität Bonn
- [49] A. B. Permin, R. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12406-12407
- [50] J. Natterer, *Dissertation* **1997**, Universität Bonn
- [51] M. Haake, J. Barkemeyer, J. Bargon, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 17539-17543
- [52] R. Eisenberg, T. C. Eisenschmid, M. S. Chinn, R. U. Kirss, *Adv. Chem. Ser.* **1992**, *230*, 47-74
- [53] A. Harthun, R. Kadyrov, R. Selke, J. Bargon, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1155-1156
- [54] R. Giernoth, H. Heinrich, N. J. Adams, R. J. Deeth, J. Bargon, J. M. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12381-12382
- [55] H. Heinrich, R. Giernoth, J. Bargon, J. M. Brown, *Chem. Commun.* **2001**, 1296-1297
- [56] R. Giernoth, P. Hübler, J. Bargon, *Angew. Chem.* **1998**, *10*, 401
- [57] A. Harthun, R. Selke, J. Bargon, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2666-2669
- [58] A. Harthun, R. Giernoth, C. J. Elsevier, J. Bargon, *Chem. Commun.* **1996**, 2483-2484
- [59] J. Bargon, J. Kandels, P. Kating, A. Thomas, K. Woelk, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5721-5724

- [60] P. Hübler, R. Giernoth, G. Kümmerle, J. Bargon, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5311-5318
- [61] K. Woelk, J. Bargon, *Z. Phys. Chem.* **1993**, *182*, 155-165
- [62] M. T. Ashby, J. Halpern, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 589-594
- [63] M. S. Chinn, R. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1908-1909
- [64] P. Hübler, *Dissertation* **2000**, Universität Bonn
- [65] S. B. Duckett, C. L. Newell, R. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1156-1157
- [66] R. R. Schrock, J. A. Osborn, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 2134-2143
- [67] R. R. Schrock, J. A. Osborn, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 2144-2147
- [68] R. R. Schrock, J. A. Osborn, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 4450-4455
- [69] J. Halpern, *Trans. Am. Crystallogr. Assoc.* **1978**, *14*, 59-70
- [70] K. Woelk, *Diplomarbeit* **1988**, Universität Bonn
- [71] M. H. Levitt, *"Spin Dynamics: Basics of NMR"*, John Wiley & Sons, Ltd, **2001**
- [72] B. Reif, H. Steinhagen, B. Junker, M. Reggelin, C. Giesinger, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2006-2009
- [73] M. Carravetta, O. G. Johannesson, M. H. Levitt, *Phys. Rev. Lett* **2003**, *92*, Art. No. 153003
- [74] M. Carravetta, M. H. Levitt, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *12*, 6228-6229
- [75] T. C. Eisenschmid, *Dissertation* **1989**, University of Rochester
- [76] J. Barkemeyer, *Dissertation* **1996**, Universität Bonn
- [77] M. Haake, J. Natterer, J. Bargon, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8688-8691
- [78] J. Barkemeyer, J. Bargon, H. Sengtschmid, R. Freeman, *J. Magn. Reson. Ser. A* **1996**, *120*, 129-132
- [79] M. Haake, *Dissertation* **1996**, Universität Bonn
- [80] L. Kuhn, *Diplomarbeit* **2004**, Universität Bonn
- [81] M. Stephan, O. Kohlmann, H. G. Niessen, A. Eichhorn, *Magn. Reson. Chem.* **2002**, *40*, 157-160
- [82] R. Giernoth, *Dissertation* **1999**, Universität Bonn
- [83] H. Johannesson, O. Axelson, M. Karlsson, *C. R. Physique.* **2004**, *5*, 315-324
- [84] M. Stephan, Vortrag: Arbeitsgruppenseminar, Prof. Bargon, Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, Universität Bonn **2002**

- [85] K. A. Lehmann, *Pharmazie in unserer Zeit* **1982**, *1*, 18-32
- [86] <http://www.epilepsie-netz.de/146/Epilepsie-Ratgeber/Antiepileptika.htm>,
aufgerufen am 07.01.05
- [87] P. Karlson, "*Biochemie*", Georg Thieme Verlag, Stuttgart **1993**
- [88] H. R. Christen, F. Vögtle, "*Organische Chemie*", Band II, Otto Salle Verlag,
Frankfurt am Main, Verlag Sauerländer, Aarau, Frankfurt am Main, Salzburg
1990
- [89] H. Heinrich, *Dissertation* **2002**, Universität Bonn
- [90] E. Mutschler, G. Geisslinger, K. Kroemer, M. Schäfer-Korting, "*Mutschler
Arzneimittelwirkungen*", Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart,
2001
- [91] R. J. Abraham, J. Fischer, P. Loftus, "*Introduction to NMR Spectroscopy*", John
Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, **1988**
- [92] B. M. Trost, R. C. Livingston, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9586-9587
- [93] D. Schleyer, *Dissertation* **2000**, Universität Bonn,
- [94] J. Natterer, O. Schedletzky, J. Bargon, S. J. Glaser, *J. Magn. Reson.* **1998**, *133*,
92-97
- [95] S. Aime, R. Gobetto, F. Reineri, D. Canet, *J. Chem. Phys.* **2003**, *119*, 8890-8896
- [96] T. Schmidt, *Dissertation* **2003**, Universität Bonn